Aus der Kinderklinik
der Freien Universität Berlin
Kaiserin Auguste Victoria Haus
Direktor: Prof. Dr. H. Helge

DER EINFLUSS VON NEUEREN RÖNTGENKONTRASTMITTELN AUF DIE SERUMBILIRUBINKONZENTRATION DER JUNGEN GUNN—RATTE NACH INTRAVENÖSER INJEKTION

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Heinz Joachim Maaß
aus Berlin

1983

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548817_0041

Aus der Kinderklinik
der Freien Universität Berlin
Kaiserin Auguste Victoria Haus
Direktor: Prof. Dr. H. Helge

Der Einfluß von neueren Röntgenkontrastmitteln auf die Serumbilirubinkonzentration der jungen Gunn-Ratte nach intravenöser Injektion

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Heinz Joachim Maaß
Berlin

Referent: Prof. Dr. med. L. Ballowitz
Korreferent: Prof. Dr. med. W. Losert

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 31. Oktober 1984

Inhaltsverzeichnis

		Seite
I.	Einleitung	5
	A: Thema und Fragestellung	5
	B: Literaturübersicht	7
	1. Kernikterus	7
	2. Bilirubin-Albumin-Bindung	8
II.	Material und Methoden	12
	A: Versuchstiere	12
	B: Versuchsdurchführung	13
	1. Vorversuche	13
	a) Prüfung der Volumenverträglichkeit	13
	b) Toxizitätsprüfungen	14
	c) Optische Eigenschaften der KM	14
	2. Hauptversuche	16
	a) Procedere	17
	b) Injektionstechnik	17
	c) Blutentnahmen und Bilirubin-Messungen, Hkt	21
	3. Weitere Untersuchungen	24
	4. Statistik	25
	C: Präparate	26
III.	Ergebnisse	31
	A: Akute Toxizität (LD_{50})	31
	B: Serumbilirubin	35
	C: Hämatokrit	58
	D: Gewichtsentwicklung	68
	E: Schwimmtest	75
	F: Röntgenbilder	80
IV.	Diskussion	91
V.	Zusammenfassung	110
VI.	Literaturverzeichnis	114

A B K Ü R Z U N G E N

GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
Hkt	Hämatokrit
HWZ	Halbwertzeit
KG	Körpergewicht
KM	Kontrastmittel
LD_{50}	Letalitäts-Dosis$_{50}$ = Dosis, die 50 % der Versuchstiere tötet
MWG	Massenwirkungsgesetz
NaCl	0,9 %ige NaCl-Lösung
SBK	Serumbilirubinkonzentration
ZNS	Zentralnervensystem
dl	Deziliter
i.v.	intravenös
p.inj.	post injectionem
s.c.	subcutan

I. Einleitung

A Thema und Fragestellung

Die Arzneimittelanwendung im Neugeborenenalter hat zu berücksichtigen, daß es wegen der Unreife der kindlichen Organ-, Transport- und Enzymsysteme leicht zu unerwünschten und gefährlichen Nebenwirkungen kommen kann, die bei gleicher Dosierung im Erwachsenenalter nicht auftreten.

Das Thema der vorliegenden Arbeit basiert auf der Forderung von Stern (92), daß alle Präparate, die beim Neugeborenen angewendet werden, auf ihre bilirubinverdrängende Potenz hin untersucht werden müssen.

Die Gefährdung ikterischer Neugeborener durch einen Kernikterus nimmt nämlich stark zu, wenn Pharmaka nicht wasserlösliches Bilirubin aus der Plasma-Albuminbindung heraus verdrängen. Freies, nicht glucuronidiertes Bilirubin kann dann in das ZNS eindringen und dort Nervenzellen schädigen. Albumin-gebundenes Bilirubin wirkt nicht ganglienzelltoxisch (21).

In der Kinderklinik der Freien Universität Berlin besteht seit 1963 zum Thema Hyperbilirubinämie eine Arbeitsgruppe um Ballowitz und Hanefeld, in der u.a. die Bilirubinverdrängung durch Medikamente im Tierexperiment untersucht wird.

Als Modell für das ikterische Neugeborene dient die homozygote Gunn-Ratte, die wegen eines rezessiv vererbbaren Glucuronyltransferase-Mangels nicht in der Lage ist, ihr Bilirubin in der üblichen Weise über die Leber auszuscheiden.

Zahlreiche Präparate wurden überprüft. Kriterium für das Ausmaß der Bilirubinverdrängung aus der Albuminbindung war immer der Grad des Serumbilirubinabfalls nach Medikamentengabe.

Als bedenklich erwiesen sich die Sulfonamide (5), aber auch einzelne Antibiotika, wie ß-Lactamantibiotika (5). Auch Lösungsvermittler und Stabilisatoren (z.B. Benzylalkohol) waren unabhängig vom enthaltenen Wirkstoff in der Lage, Bilirubin vom Albumin zu verdrängen (6). Die Bedeutung der Serumalbuminkonzentration (31) und der Effekt der Phototherapie bei Hyperbilirubinämie konnte demonstriert werden (2, 3, 5).

In jüngster Zeit wurde der Einfluß von verschiedenen Röntgenkontrastmitteln auf die Serumbilirubinkonzentration der jungen Gunn-Ratte studiert.

Dabei fand Ehnert nach s.c. Injektion deutliche Unterschiede bezüglich akuter Toxizität und Höhe des Serumbilirubinabfalls zwischen einzelnen Substanzen (30). Da bei der verwendeten Injektionstechnik das Resorptionsverhalten aus dem subcutanen Depot eine Rolle spielen kann und außerdem inzwischen neue Präparate entwickelt wurden, war es wünschenswert, einen entsprechenden Präparatevergleich nach i.v. Injektion erneut durchzuführen.

In der vorliegenden Arbeit soll über die Effekte von vier intravenös applizierten, zum Teil neuen Röntgenkontrastmitteln auf die neonatale Gunn-Ratte berichtet werden.

Es wurden vorzugsweise Kontrastmittel getestet, die für den Indikationsbereich im Neugeborenenalter relevant sind.

Es sind dies die Mittel zur Darstellung der Herzbinnenhöhlen, Gefäße, der ableitenden Harnwege und Liquorräume, hier vertreten durch Amipaque^{R} sowie durch die fast ausschließlich für die Angiografie benutzten Präparate Angiografin^{R}, Hexabrix^{R} und Solutrast^{R}.

Auf die Untersuchung der stark eiweißgebundenen Kontrastmittel zur Darstellung der Gallenwege, die bei Neugeborenen selten eingesetzt werden, wurde verzichtet.

Folgende Fragen sollen geklärt werden:

1. Wie hoch ist die akute Toxizität der einzelnen Kontrastmittel?
2. Wie stark verdrängen die Kontrastmittel Bilirubin aus der Albumin-Bindung?
3. Verändern sich Hämatokrit und Wachstumsverhalten nach Kontrastmittel-Injektion?
4. Lassen sich neurologische Zeichen eines Kernikterus abhängig von Präparatewahl und Dosierung beobachten?
5. Können aus dem Röntgenbild Rückschlüsse auf die Pharmakokinetik der Kontrastmittel gezogen werden?
6. Gibt es Unterschiede zwischen den Ergebnissen der s.c. Injektion und der i.v. Applikation?

B Literaturübersicht

1. Kernikterus

Bilirubin in hoher Konzentration wirkt toxisch auf Nervenzellen durch Beeinträchtigung von Zellatmung (25), oxidativer Phosphorylierung (99), Glucose- (44) und Eiweißstoffwechsel (75) sowie oxidativer Enzymfunktion (37) der Neurone. Dies kann bei Neugeborenen mit Hyperbilirubinämie vorwiegend in den Stammganglien zu Nervenzellschäden führen, die sich dann klinisch und pathologisch-anatomisch als Kernikterus manifestieren (13). Das Vollbild der Symptomatik umfaßt Trinkschwäche, Somnolenz, Sonnenuntergangsphänomen, Ataxie, Koordinationsstörungen, Rigidität, Opisthotonus und schrilles Schreien. Später kommt es zu Spastiken und Krämpfen. Zahlreiche Kinder sterben. Haupttodesursache der Bilirubinencephalopathie bei Mensch und Tier ist die zentrale Atemlähmung (84, 40, 58). Bei der Sektion von homozygoten ikterischen Gunn-Ratten zeigt sich makroskopisch

eine Gelbfärbung der grauen Substanz in sämtlichen Abschnitten des ZNS (40). Lichtmikroskopisch finden sich dort Bilirubin-Granula und Vakuolen in den zerstörten Nervenzellen (37). Die Zahl der Purkinjezellen der Molekular- und Körnerzellschicht im Kleinhirn ist vermindert (80). Das elektronenmikroskopische Bild zeigt Membrankörper, vergrößerte und vakuolisierte Mitochondrien (37).

2. Bilirubin-Albumin-Bindung

Erstmals wiesen A. Silverman und Mitarbeiter 1956 auf den Zusammenhang zwischen Antibiotika-Gaben und Auftreten einer Bilirubinencephalopathie hin (84). Sie verglichen die Wirksamkeit prophylaktischer Gaben bei Frühgeborenen in den ersten fünf Lebenstagen. Die Überlebenschancen und Autopsiebefunde wurden gegenübergestellt. Eine Gruppe hatte als Infektionsprophylaxe eine Kombination aus Penicillin und Sulfisoxazol (Gantrisin^{R}) bekommen, die andere Oxytetracyclin. In der Sulfonamid-Gruppe lag die Gesamtzahl der Todesfälle fast drei mal höher. Noch eindeutiger waren die Autopsiebefunde: 64 % der aus der Gantrisin^{R}-Gruppe nach fünf Tagen und später verstorbenen Kinder hatten einen Kernikterus im Vergleich zu 0 % in der Oxytetracyclin-Gruppe.

Da der Penicillin-Anteil in der Präparate-Kombination mit Sicherheit nicht für die schlechten Ergebnisse verantwortlich war, galt das weitere Interesse der Rolle des Sulfisoxazol im Bilirubin-Stoffwechsel.

Johnson und Mitarbeiter konnten kurz darauf die klinischen Beobachtungen Silvermans im Tierversuch bestätigen (40). Sie wiesen nach, daß bei der homozygoten Gunn-Ratte Injektionen von Sulfonamiden (Sulfisoxazol) einen abrupten Abfall der Serumbilirubinkonzentration verursachten, der mit einer Häufung der Bilirubinencephalopathie einherging. Zur Erklärung dieses Phänomens verwiesen die Autoren auf die Theorie von Odell, der schon 1958 (64) vermutete,

daß Bilirubin und Sulfonamide um gemeinsame Bindungsstellen am Serumalbumin konkurrieren.

Odell zeigte bald darauf, daß nach Zusatz von proteingebundenen Anionen zu Seren ikterischer Kinder die Spektralabsorptionskurve von proteingebundenem Bilirubin erniedrigt war. Gleichzeitig wurde ein Teil des Serumbilirubins ultrafiltrierbar (66). Diesen frei diffusiblen Anteil sah er als entscheidend an für die Bilirubin-Toxizität, nicht etwa die extrazelluläre Gesamtkonzentration (67).

1953 gelang die Isolation des gelben Pigments aus dem Gehirn von Kindern, die an Kernikterus verstorben waren. Dieses wurde als Bilirubin identifiziert (20). Später konnte bei neugeborenen und sogar bei erwachsenen Gunn-Ratten gezeigt werden, daß die i.v. Injektion von Sulfisoxazol die Aufnahme von ^{14}C-radioaktiv markiertem Bilirubin aus dem Blut in das Gehirn stark erhöht (62, 26).

Die typischen neurologischen Schäden des Kernikterus waren dann die Folge (26). Ihr histologisches Bild wurde an Kleinhirn-Zellkulturen der Ratte mit freiem unkonjugierten Bilirubin reproduziert (82). Die Läsionen traten dabei in vitro um so schneller und ausgeprägter auf, je höher der Bilirubingehalt des Milieus war. Solange Bilirubin aber unter gleichen Bedingungen äquimolar an Albumin gebunden vorlag, wirkte es in vitro nicht cytotoxisch (21).

Damit war die Kausalkette Sulfonamid-Kernikterus bewiesen. Inzwischen liegen zahlreiche Arbeiten vor, die sich genauer mit den Eigenschaften der Bilirubin-Albumin-Bindung befassen. Sie führen zu folgender Vorstellung:

Nicht konjugiertes (indirektes) Bilirubin wird im Plasma reversibel an Albumin in einem molaren Verhältnis von 1:1 fest gebunden (67, 60). Die Bindung eines zweiten Bilirubinmoleküls ist zwar möglich, sie ist aber weniger fest (4).

Plasmaglobuline können ebenfalls Bilirubin transportieren, jedoch ist die dort gebundene Menge vernachlässigbar

gering (46). Das Bindungsverhalten zwischen Albumin und Bilirubin unterliegt nach der Gleichung

$$\frac{(Alb\text{-}B)}{(Alb^{+})\ (B^{-})} = K$$

dem Massenwirkungsgesetz (MWG). Es ist damit abhängig von der Konzentration der Bindungspartner (67, 65).

Für die Bindungsstellen unterschiedlicher Affinität am Albumin wurden verschiedene Bindungskonstanten bestimmt: Sie betragen $K = 1{,}4 \times 10^{8}\ M^{-1}$ für die Stelle hoher Affinität und $5 \times 10^{5}\ M^{-1}$ für zwei weitere Bindungsorte (38).

Etwa die Hälfte der verfügbaren Bindungskapazität von 3g/dl Albumin wird durch die normalerweise im Blut kreisenden Anionen wie Gallensäuren, Fettsäuren und Hämatin blockiert (10, 4). Die verbleibenden 1,5 g/dl sind bei einer Aufnahmekapazität von 15 mg Bilirubin/g Albumin bei Erreichen einer Serumbilirubinkonzentration von ca. 22 mg/dl gesättigt.

Oberhalb dieses Grenzwertes wird ein Kernikterus wahrscheinlich, da dann der Anteil des nichtgebundenen Bilirubins stark ansteigt (67, 26, 71, 4). Wenn die aktuelle Albuminbindungskapazität für Bilirubin herabgesetzt ist durch Albuminmangel, direkte Abschwächung der Bindung und kompetitive Verdrängungsprozesse, kann ein Kernikterus auch bei Serumbilirubin-Werten von weniger als 22 mg/dl auftreten (93). So gelten Faktoren wie Hypoxie (13, 56), Acidose (68), Erhöhung der Konzentration von freien Fettsäuren im Serum (15, 89), Hypalbuminämie (67), Hunger (4), Infektionen (40), Hypoglycämie (27), Kältestreß (91) und Hämolyse (67) als Risikofaktoren für das Entstehen eines Kernikterus, durch die besonders das Frühgeborene gefährdet ist (93).

Großes Interesse galt der Frage, welche Pharmaka einen Kernikterus begünstigen können.

Durch die Peroxidase-Technik wurde die quantitative Bestimmung der Bindung von Medikamenten an die Bilirubin-Bindungsstelle hoher Affinität am Albumin möglich (12).

Von zahllosen Präparaten wurde so die Bindungskonstante ermittelt, die eine Abschätzung der Fähigkeit, Bilirubin zu verdrängen, zuläßt (15).

Yeary und Davis verglichen verschiedene in vivo- und in vitro-Meßmethoden zur Messung des ungebundenen Bilirubins (98). Sie empfehlen die homozygote Gunn-Ratte als wertvolles Tiermodell zum Studium der medikamenteninduzierten Bilirubinverdrängung, weil die Pharmakokinetik in den Effekt mit eingeht und auch die Wirkung von Metaboliten beurteilt werden kann.

II. Material und Methoden

A Versuchstiere

Die Gunn-Ratte, eine Mutante des Wistar-Stammes, wurde erstmals 1938 von Gunn beschrieben (36). Sie besitzt einen autosomal rezessiv vererbbaren UDP-Glucuronyltransferase-Mangel, der in der Leber von homozygoten Tieren zu einer Herabsetzung der Glucuronyltransferase-Aktivität auf ein Minimum führt (40). Indirektes Bilirubin wird in diesem Fall nicht an Glucuronsäure gekoppelt und kann daher nicht in wasserlöslicher Form über die Galle ausgeschieden werden. Die Folge ist ein lebenslanger nicht-hämolytischer Ikterus, der dem Crigler-Najjar-Syndrom des Menschen (22) entspricht. Heterozygote Tiere besitzen den Enzymdefekt nur partiell. Eine Hyperbilirubinämie entsteht nicht (40), da die Enzymkapazität für normale Bilirubinmengen ausreicht. Schon kurze Zeit nach der Geburt werden die homozygoten Rattenbabies durch die zunehmende Gelbfärbung der Haut erkennbar (40). Zwei Stunden nach der Geburt finden sich bei ihnen Serumbilirubinkonzentrationen von ca. 2 mg/dl, nach 12 Stunden etwa 6 mg/dl. Zwischen dem 14. und 16. Lebenstag erreicht das Serumbilirubin mit Werten um 11 mg/dl seinen Höchstwert, um in den nächsten zwei Wochen auf ca. 6 mg/dl, den Durchschnittswert für erwachsene Tiere, abzufallen (40, 81).

Bei 70 % der homozygoten Tiere entwickelt sich als Folge der Hyperbilirubinämie in den ersten 3 Lebenswochen ein Kernikterus, der in der Hälfte der Fälle zum Tode führen kann (41).

Für die Versuche wurden 217 homozygote und 153 heterozygote Ratten verwendet, die fast alle zwischen 3 und 6 Tage alt waren. Das mittlere Körpergewicht lag zwischen 9 und 13 g, die mittlere Serumbilirubinkonzentration schwankte bei den homozygoten Ratten zwischen 6,5 und 10,5 mg/dl. Die Tiere verblieben während der Versuchsdauer

bei der Mutter im abgedunkelten klimatisierten Zuchtraum (30° C, 30-40 % Luftfeuchtigkeit).

Zur Haltung der Tiere dienten Makrolon-Käfige mit Hobelspänen als Einstreu. Die Ernährung der Jungtiere erfolgte durch die heterozygoten laktierenden Muttertiere. Um ein optimales Milchangebot zu garantieren, erhielt ein Muttertier maximal 7 Junge zum Säugen. Der Bedarf der Rattenmutter selbst wurde durch ausreichende Zufuhr von Trockenfutter (Altromin R 15) und Wasser ad libitum gedeckt.

B Versuchsdurchführung

1. Vorversuche

a) Prüfung der Volumenverträglichkeit

Zunächst wurde das maximal injizierbare Flüssigkeitsvolumen bestimmt, das die junge Ratte verträgt. Dazu wurde physiologische Kochsalzlösung (NaCl 0,9 %ig) in steigenden Dosen s.c. oder i.v. appliziert. Dabei zeigte sich, daß bei s.c. Applikation selbst 80 Milliliter pro Kilogramm Körpergewicht (80 ml/kg KG) wegen der langsamen Resorption aus dem s.c. Depot problemlos vertragen wurden. Intravenös ließen sich dagegen größere Dosen als 25 ml/kg KG schon technisch nur unter Schwierigkeiten vollständig ohne Extravasate injizieren. Bei langsamer i.v. Injektion von 30 ml/kg KG NaCl 0,9 %ig über 1 Minute in die Vena jugularis externa mit der unten beschriebenen Technik kam es außerdem regelmäßig zu einer Volumenüberlastung des Kreislaufs der Versuchstiere. Die Ratten wurden dann cyanotisch und es entwickelte sich nicht selten ein Lungenödem mit Hervortreten von hämorrhagisch-schaumigem Sputum. Die Dosis von 25 ml/kg KG wurde jedoch in allen Fällen ohne Symptome toleriert. Dies deckt sich in etwa mit den Ausführungen Breitensteins (11), der angibt, daß 30 ml/kg KG NaCl 0,9 %ig i.v. bei neugeborenen Ratten zu 100 % vertragen wird, während

nach i.v. Injektionen von 40 ml/kg KG sämtliche Tiere sterben. Dies entspricht einer LD_{50} von 35 ml/kg KG NaCl 0,9 %ig i.v.. Für sämtliche Versuche mit i.v. Injektion, vor allem für die Hauptversuche, wurde daher eine Maximaldosis gewählt, die Nebeneffekte durch Volumenüberlastung mit Sicherheit ausschließt.

b) Toxizitätsprüfungen

Am Beginn jeder Testreihe stand die Bestimmung der akuten Toxizität (LD_{50}) des jeweiligen Konstrastmittels (KM). Verwendet wurden dafür ausschließlich heterozygote, also nicht ikterische, 3-5 Tage alte Rattenbabies mit einem Gewicht von ca. 10 g. Die Tiere wurden zunächst an den Zehen gezeichnet und anschließend gewogen. Die Applikation der KM erfolgte wie bei allen anderen Versuchen entweder s.c. in eine Hautfalte am Rücken oder i.v. innerhalb einer Minute in die Vena jugularis externa.

Die Dosierung der Präparate lag zwischen 10-80 ml/kg KG (s.c.) bzw. 10-25 ml/kg KG (i.v.). Nach einmaliger Injektion wurden die Tiere 4 Tage lang beobachtet und täglich gewogen. Als LD_{50} (9) ergibt sich daraus diejenige Medikamentendosis, die 50 % der heterozygoten Versuchstiere im Beobachtungszeitraum nicht überleben.

c) Optische Eigenschaften der KM

Es wurde überprüft, ob die Anwesenheit der Kontrastmittel in den Serumproben die Bilirubinbestimmung in den Hauptversuchen stören könnte. Da die Messung der Serumbilirubinkonzentration (SBK) photometrisch bei 461 nm erfolgen sollte (s. Abschn. Blutentn. u. Mess.), dürfen die KM kein Licht gleicher Wellenlänge absorbieren. Um diese Möglichkeit auszuschließen, wurde ein Serum-Standard

mit einer definierten Bilirubinkonzentration von 9,7 mg/dl mit jedem der eingesetzten KM sowie NaCl 0,9 %ig zur Kontrolle stufenweise verdünnt. Anschließend wurde die Bilirubinkonzentration direkt photometrisch am American Optical Bilirubinometer gemessen.

In Abb. 1 sind die ermittelten Serumbilirubinkonzentrationen bei den verschiedenen Mischungsverhältnissen aufgetragen.

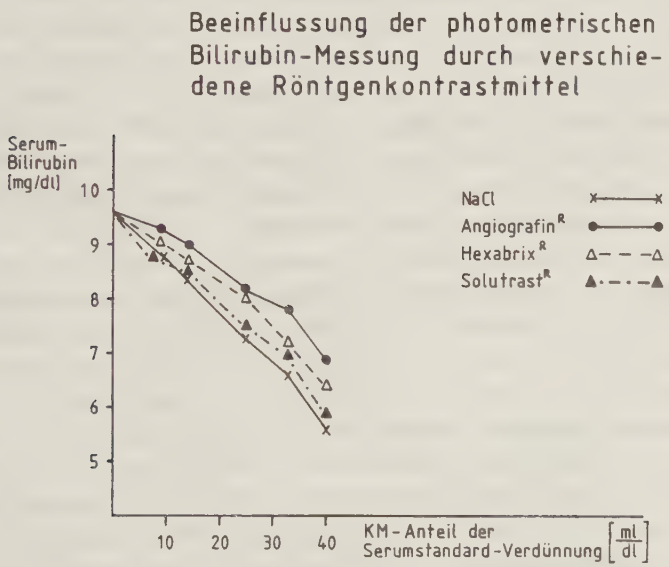

Abb. 1: Verdünnungskurven eines Serum-Standards mit einem Bilirubin-Gehalt von 9,7 mg/dl durch Zusatz aufsteigender Volumina verschiedener Rö-KM sowie NaCl-Lösung 0,9 %ig

Für Amipaque^{R} ließen sich Verdünnungswerte für Bilirubin messen, die absolut identisch waren mit denen bei NaCl-Verdünnung. Daher wurde auf eine graphische Darstellung dieser Werte als Kurve in Abb. 1 verzichtet. Bei Solutrast^{R}-Zumischung ergaben sich nur minimale Unterschiede

zur Kochsalz-Kontrolle. Für Angiografin^{R} und Hexabrix^{R} zeigten sich falsch hohe Bilirubin-Werte, die um so höher über den Werten bei NaCl-Verdünnung lagen, je größer das zugesetzte KM-Volumen war. Das spielt aber für die SBK-Messungen in meiner Arbeit keine Rolle, denn der Anteil der KM im Plasma der Gunn-Ratten ist zum Zeitpunkt der ersten SBK-Bestimmung 15 Minuten nach i.v. Gabe der verwendeten KM-Dosen schon kleiner als 5 ml/dl.

Durch schnellen Abstrom aus dem Intravasalraum erscheinen nämlich unmittelbar nach i.v. Injektion von KM in Wirklichkeit nur maximal 40 % der Gesamtdosis im Blut (87). 15 Minuten später (15 min.p.inj.) sind dort von Angiografin^{R}, das ähnlich wie Amipaque^{R} im Vergleich zu den anderen 2 getesteten Substanzen langsam ausgeschieden wird (s. Abschn. Präparate), höchstens noch 30 % der Gesamtdosis vorhanden. Bei einer KM-Dosis von 10 ml/kg KG i.v. und einem angenommenen Plasmavolumen von ca. 60 ml/kg KG vor Injektion ergibt sich zu diesem Zeitpunkt ein Mischungsverhältnis von maximal 3 ml KM/63 ml Plasma. Das entspricht bei der ersten Blutabnahme 15 min.p.inj. einem KM-Anteil am Serumvolumen der Blutprobe von weniger als 5 ml/dl. In diesem Konzentrationsbereich, das zeigen die Kurven in Abb. 1 eindeutig, entsprechen die Änderungen der SBK, die durch Zugabe von KM im Ansatz entstehen, nahezu exakt dem Verdünnungseffekt durch Zusatz gleicher Volumina physiologischer Kochsalzlösung. Eine Verfälschung der photometrischen Bilirubinmessungen durch optische Interferenz der KM mit Bilirubin war damit in meinen Versuchen ausgeschlossen.

2. Hauptversuche

Die Versuche, in denen die Änderung der Serumbilirubinkonzentration durch KM studiert werden sollte, wurden ausschließlich mit homozygoten Rattenbabies durchgeführt.

a) Procedere

Nach Zeichnen und Wiegen der Tiere zunächst Blutentnahme aus dem Schwanz zur Bestimmung der Ausgangswerte für Bilirubin und Hämatokrit (0-Wert). Anschließend Verschorfung der Entnahmestelle mit einer erhitzten Glaskapillare zur Blutstillung und Infektionsverhütung. Dann einmalige s.c. Applikation in eine Rückenhautfalte oder i.v. Gabe der KM bzw. NaCl-Lösung 0,9 %ig (im folgenden häufig nur NaCl genannt) als Kontrolle.

Um medikamententoxische Nebenwirkungen auszuschließen, lag die Dosierung in den Hauptversuchen zwischen 20 und 30 % der in den Vorversuchen bei heterozygoten Tieren ermittelten LD_{50}. Bei Hexabrix^{R} waren es einmal 46 %, wodurch es zu Nebenwirkungen kam.

Weitere Blutentnahmen aus dem Schwanz für Bilirubin- und Hämatokritbestimmungen erfolgten 15 min., 30 min., 3 Stunden und 24 Stunden p.inj..

b) Injektionstechnik

Injektionsort bei i.v. Gabe waren die Venae jugulares externae, die bei den nackten Rattenbabies mit dünnem Unterhautfettgewebe gut darstellbar waren.

Verwendet wurden Schädelvenenkatheter der Fa. Vycon mit Butterfly-Kanülen von 0,4 mm Durchmesser. Zur exakten Dosierung dienten Tuberkulinspritzen von 1 ml Fassungsvermögen. Die Tiere wurden während der herzwärts gerichteten Injektion mit Pflasterstreifen oder manuell fixiert. Die Injektionszeit betrug ca. 1 Minute. Die injizierten Volumina lagen zwischen 5 und 10 ml/kg KG und damit sicher in einem Bereich, in dem eine Volumenüberlastung ausgeschlossen war.

Paravenöse Injektionen konnten optisch oder durch Röntgenkontrolle nach i.v. Injektion ausgeschlossen werden. Alle Tiere mit subcutanen Quaddeln an der Einstichstelle,

die im Röntgenbild regelmäßig als stark schattengebende Kontrastmitteldepots imponierten, fielen wegen nicht vollständig intravasaler Applikation der berechneten Dosis aus dem Versuch heraus. Die Abb. 2 zeigt Röntgenbilder, die nach intravenöser Injektion von 10 ml/kg KG Hexabrix^{R} in die Vena jugularis angefertigt wurden. 3 Minuten nach der Injektion ist ein deutlicher Kontrastmittelrest im Injektionsgebiet zu erkennen, der bereits während der Injektion als s.c. Depot auffiel. Das Versuchstier wurde daraufhin schon vor der Röntgenkontrolle ausgemustert. Die intravasal wirksame KM-Dosis war aber trotzdem so groß, daß Niere und ableitende Harnwege in der Frühphase der KM-Ausscheidung nach 3 Minuten bereits sichtbar sind. 20 Minuten p.inj. ist das Kontrastmittelextravasat vollständig resorbiert. Gleichzeitig sind die beiden Nierenbecken gut, Ureter und Harnblase sogar sehr gut dargestellt.

Die beschriebene Injektionstechnik erwies sich in röntgenologisch kontrollierten Vorversuchen allen anderen möglichen in bezug auf technische Durchführbarkeit, Treffsicherheit und homogene intravasale Verteilung der KM als überlegen.

Bei Injektion in die zunächst favorisierte Schädelvene zeigten sich so z.B. des öfteren Extravasate oder eine Kontrastdarstellung von intracerebralen Venen über Kollateralen und damit eine mangelnde Abflutung des Kontrastmittels aus dem Kopfbereich. Abb. 3 zeigt einen solchen Fall. 3 Minuten nach i.v. Injektion von 10 ml/kg KG Amipaque^{R} in eine oberflächliche Schädelvene zeigt das Röntgenbild eine exzellente Darstellung der Hirnsinus, die auch noch nach 30 Minuten zu sehen ist. Hier konnte es nicht zu der für konstante Versuchsbedingungen notwendigen gleichmäßigen Verteilung des Kontrastmittels innerhalb des gesamten Blutvolumens kommen. Damit ist bei normaler i.v. Injektion nach mehreren Blutumläufen innerhalb von 4-5 Minuten zu rechnen (79).

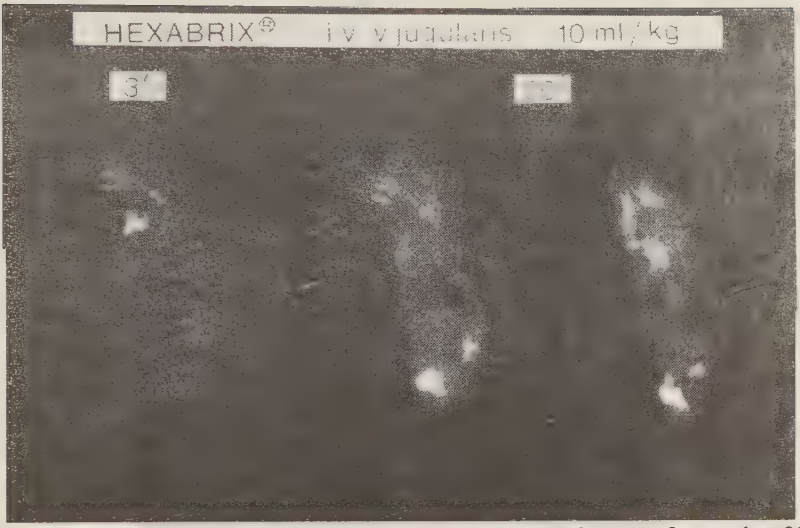

Abb. 2: Röntgendarstellung eines Rattenbabies 3 und 20 Minuten nach i.v. Injektion von Hexabrix®

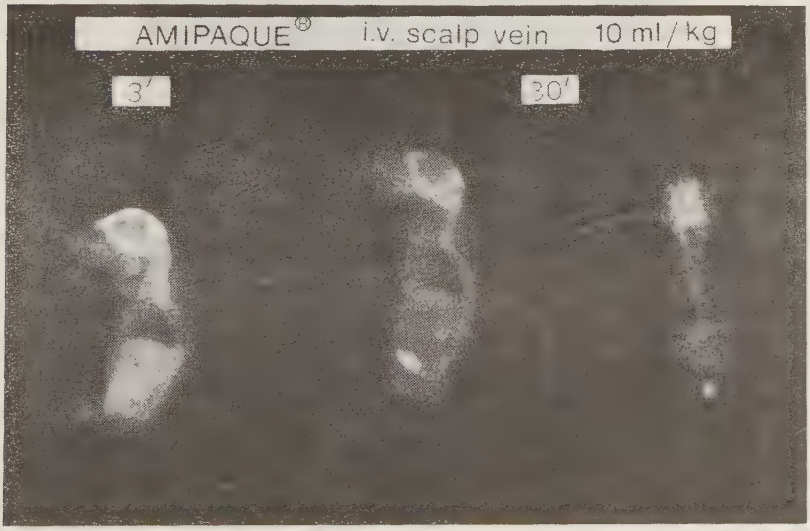

Abb. 3: Röntgendarstellung eines Rattenbabies 3 und 20 Minuten nach i.v. Injektion von Amipaque® in eine Schädelvene

Abb. 4: Kontrastdarstellung von intracerebralen Venen drei Minuten nach i.v. Injektion von Amipaque^{R} 10 ml/kg KG in die Schädelvene einer 5 Tage alten Gunn-Ratte (Vergrößerung)

In Abb. 4 ist dieses Phänomen noch einmal bei demselben Tier in einer Vergrößerung zu sehen. 30 Minuten nach der Injektion besteht im Kopfbereich immer noch ein Kontrast (s. Abb. 3), allerdings ist er deutlich flauer. Die Kontrastierung von Nierenbecken und Blase erreicht zur gleichen Zeit nicht die Qualität, die sonst bei optimaler Kontrastmittel-Verteilung im Körper nach i.v. Injektion in die Vena jugularis mit diesem Präparat erzielbar ist (s. Ergebnisse).

Derartige Kurzschlußeffekte, die reproduzierbare Versuchsergebnisse ausschließen, traten bei der oben beschriebenen Injektionstechnik in die Vena jugularis externa nicht auf.

c) Blutentnahmen und Bilirubin-Messungen, Hkt

Alle Blutproben wurden in heparinisierte Hämatokritröhrchen entnommen, gegen Lichteinfall geschützt kurz aufbewahrt und anschließend mit 3000 Umdrehungen/min. 5 Minuten lang zentrifugiert (ECCO Zentrifuge Typ e 2/12). Anschließend wurde das Gesamtbilirubin mit einem Bilirubinometer der Fa. American Optical direkt photometrisch bei 461 nm gegen einen Glasfilterstandard von 14,5 mg/dl gemessen. Diese Wellenlänge entspricht dem Extinktionsmaximum von albumingebundenem Bilirubin, das bei 460 nm liegt (72). Das dissoziierte Bilirubin mit einem Absorptionsmaximum von 440 nm (72) wird damit zwar nicht optimal erfaßt, jedoch spielt das keine Rolle, da der Anteil am Gesamtbilirubin im Serum nach dem MWG nur 0,001 % beträgt (54).

Hämolytische oder lipämische Serumproben wurden verworfen, da sich bei früheren Untersuchungen gezeigt hatte, daß in diesen Fällen zu niedrige bzw. zu hohe Bilirubinwerte bestimmt wurden.

An dieser Stelle noch einige grundsätzliche Überlegungen zur Bilirubin-Meßmethode nach i.v. KM-Injektion:

Da der gemessene Serumbilirubinabfall nach Präparatgabe in den Hauptversuchen als Gradmesser für die Stärke der möglichen Bilirubinverdrängung vom Albumin gilt, war es wichtig, gleichzeitige Verdünnungseffekte im Serum durch die Injektion zu erfassen und den reinen Bilirubineffekt davon abzugrenzen. Schon nach intravenöser Injektion von NaCl 0,9 %ig kam es in Vorversuchen dosisabhängig zum Absinken der Serumbilirubinkonzentration. Unter der Voraussetzung isotoner Bedingungen ist der Verdünnungseffekt durch die gleiche i.v. Dosis Kontrastmittel theoretisch gleichgroß, so daß nur das Ausmaß des Serumbilirubinabfalls unter das Niveau nach i.v. NaCl-Injektion als Äquivalent für den intravasalen Bilirubinverlust angesehen werden kann. Die KM-Lösungen sind jedoch nicht plasmaisoton, denn die Osmolalität der 4 verwendeten Präparate liegt zwischen 500 und 600 mOsmol/kg, bei Angiografin^{R} sogar bei 1600 mOsmol/kg. Abb. 5, die aus (53) übernommen wurde, zeigt die Wirkung einer intravenösen Bolus-Injektion von 75 %iger, stark hypertoner Na-Meglumindiatrizoat-Lösung, Osmolalität 2470 mOsmol/kg, auf die Wasser/Elektrolyt-Balance von Kindern.

1 ml/kg KG dieses KM i.v., dessen Wirkstoff dem des Angiografin^{R} entspricht, erhöhten hier die Serumosmolalität in den ersten 5 Minuten p.inj. um 10-12 Prozent. Innerhalb 15 min.p.inj. war der Normalwert von ca. 290 mOsmol/l wieder erreicht. Hämatokrit (Hkt) und Hämoglobin (Hb) fielen umgekehrt in 5 Minuten um bis zu 18 % ab. Grund für diese Veränderungen ist neben der Schrumpfung der Erythrozyten durch Wasserentzug vor allem der Flüssigkeitseinstrom aus dem Extravasalraum entlang des osmotischen Gradienten (47). Das Plasmavolumen kann dadurch je nach Osmolalität des KM um das Mehrfache des Volumens der injizierten Kontrastmittellösung ansteigen (34). Durch die renale Ausscheidung und Verteilung des KM auch im extravasalen Raum (79) waren alle diese Verdünnungseffekte aber nach 15 bis spätestens

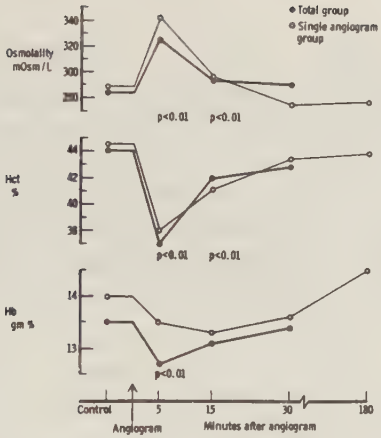

FIG. 1. Serum osmolality, hemoglobin and hematocrit. Mean values for 2 groups of patients: open circles are those patients having a single angiocardiography and the solid circles represent the total group of patients studied, those having a single and second angiocardiography.

Abb. 5: Veränderung von Serumosmolalität, Hkt und Hb bei Kindern nach i.v. Injektion von 1 ml/kg KG Hypaque M 75 % (Na- und Meglumindiatrizoat) zur Angiocardiografie nach Levin und Mitarb. (53). Näheres s. Text.

30 min.p.inj. wieder vorüber. Damit war auch bei der Gunn-Ratte zu rechnen. Auch ein anschließender Anstieg des Hkt über den Ausgangswert ist nach dem anfänglichen Verdünnungseffekt möglich. Kontrastmittel als Substanzen mit hohem Molekulargewicht (s. II.C) führen bekanntlich zur osmotischen Diurese (50), deren Grad von Dosis und Osmolalität des jeweiligen Präparats abhängig ist (19). Hämatokritanstieg und Gewichtsverlust durch Dehydratation nach 5 ml/kg KM i.v. sind beschrieben. Damit ist klar, daß der Hkt ein verläßlicher Parameter zur Beurteilung von Hämokonzentration und -dilution durch hypertone Zubereitungen ist, Ausbleiben von Hämolyse und stärkerem Blutverlust vorausgesetzt. Diese Voraussetzungen waren durch den Versuchsaufbau garantiert, denn die Serumproben wurden wie erwähnt auf Hämolyse-Freiheit überprüft und der Blutverlust durch Blutentnahme war bei

allen Tieren gleich. Aus den genannten Gründen wurde vor jeder SBK-Messung der Hkt der Serumprobe bestimmt, durch den die augenblickliche Serumverdünnung zum Meßzeitpunkt dokumentiert ist. Es ist damit ausgeschlossen, daß ein SBK-Abfall durch Verdünnung als Bilirubinverdrängung angesehen wird. Umgekehrt kann es auch nicht geschehen, daß eine vorhandene Bilirubinverdrängung wegen falsch hoch gemessener SBK bei Hämokonzentration nicht erkannt wird.

3. Weitere Untersuchungen

Zur Bestimmung des Wachstumsverhaltens wurden alle Tiere über mindestens 4 Tage nach der KM- oder NaCl-Injektion täglich gewogen. Zur Beurteilung der KM-Pharmakokinetik und röntgenologischen Kontrastgebung wurden pro Präparat-Testreihe jeweils mehrere Tiere in definierten Zeitabständen nach der s.c. oder i.v. Injektion geröntgt. Anhand der Bilder wurde dann die Stärke der Kontrastierung am Injektionsort, in Nierenbecken und Harnblase mit Punkten bewertet.

Sechs bis zehn Wochen später wurden die mit KM gespritzten homozygoten Gunn-Ratten und zum Vergleich auch wieder einige homozygote NaCl-Tiere einem Geschicklichkeitstest unterzogen, um neurologische Zeichen einer eventuell eingetretenen Bilirubinencephalopathie zu objektivieren.

Dazu wurden die Tiere einzeln in ein Wasserbecken gesetzt, das sie nur schwimmend verlassen konnten. Das Verhalten der Tiere wurde mit Punkten bewertet. Weitere Blutentnahmen erfolgten bei denselben Versuchstieren innerhalb des ersten Lebenshalbjahres, um die Frage zu beantworten, inwieweit die Gabe von Rö-KM die Schilddrüsendiagnostik in vitro beeinflußt. Zu diesem Zweck wurden zusätzlich nach Tötung der Tiere die Schilddrüsen komplett herauspräpariert und histologisch untersucht. Die Ergebnisse dieser Studien werden an anderer Stelle publiziert.

4. Statistik

Die Resultate der Bilirubin- und Hkt-Messungen sowie des Schwimmtests wurden mit Hilfe des nichtparametrischen U-Tests von Wilcoxon, Mann und Whitney statistisch überpüft. Zur Aufarbeitung der Werte für die Gewichtsentwicklung wurde der parametrische Ein-Stichproben-t-Test (Student-Verteilung) herangezogen. Hier galt die Voraussetzung, daß die Stichproben normalverteilten Grundgesamtheiten entstammen. Die Letalität durch KM wurde mit dem Vierfelder-χ^2-Test untersucht.

Die Signifikanzgrenzen wurden wie üblich mit:

$0{,}01 < p \leqq 0{,}05$	signifikant	$(^{+})$
$0{,}001 < p \leqq 0{,}01$	stark signifikant	$(^{++})$
$p \leqq 0{,}001$	hoch signifikant	$(^{+++})$

festgesetzt. Für die Fälle, in denen der statistische Vergleich durchgeführt wurde, wird in Text und Wertetabellen das nominelle Signifikanzniveau p oder die entsprechende Sternchensymbolik angegeben. Die Anmerkung (ns) bedeutet nicht signifikant, d.h. $p > 0{,}05$.

C Präparate

1. Angiografin^{R} (Megluminamidotrizoat bzw. Meglumindiatrizoat)

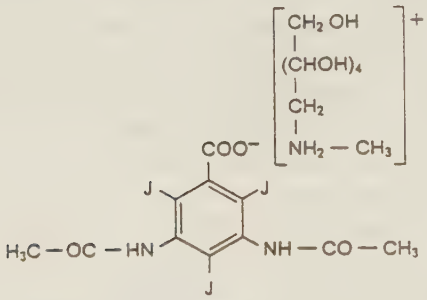

Abb. 6: Strukturformel von Megluminamidotrizoat

Eigenschaften: Es handelt sich um ein seit 1953 gebräuchliches trijodiertes ionisches Kontrastmittel in gebrauchsfertiger wässriger Lösung, das dort in 1 Anion + 1 Kation (Meglumin^{+}) dissoziiert vorliegt. 1 ml enthält 650 mg Reinsubstanz.

Summenformel: $C_{11}\ H_9\ J_3\ N_2\ O_4$ (Anion)

Chemie: N-Methylglucaminsalz der 3,5- Bis - acetamido-2,4,6 - trijod - benzoesäure oder der Diatrizoesäure

Molekulargewicht: 613,9 (Anion)

Jodgehalt:	306 mg/ml
Osmolalität:	ca. 1600 m Osmol/kg
Indikation:	Angiografie, Darstellung von Hohlorganen
Applikation:	i.v., endoskopisch
Eiweißbindung:	Die durch Ultrafiltration bestimmte Plasmaproteinbindung nach i.v. Injektion beträgt ca. 10 % (87).
Pharmakokinetik:	Unmittelbar nach i.v. Injektion erscheint beim Menschen maximal 40 % der Dosis im gesamten Blutvolumen, da sich Angiografin^{R} sehr rasch im gesamten Extrazel-

lulärraum verteilt (87). 5 min.p.inj. ist der Austausch mit einem leicht erreichbaren Teil des Extrazellulärraums entsprechend etwa 8-10 % des Körpergewichts abgeschlossen (79). Der weitere Übertritt des KM in den Extravasalraum führt schließlich zu einem auf 16-20 % des Körpergewichts erhöhten Verteilungsraum (87).

Die Ausscheidung erfolgt über die Niere und in geringem Maße über die Leber (102). Nach 15 min. liegen nur noch 30 % der verabreichten Dosis im Gesamtblutvolumen vor, nach 30 min. 20 % und nach 3 Stunden 7 % (87). In dem für die radiologische Darstellung wesentlichen Zeitraum bis 30 min.p.inj. werden 15 ± 5 % der Dosis mit dem Harn ausgeschieden, bis 3 Stunden ca. 50 % und bis 24 Stunden p.inj. etwa 85 % (87). Eine Metabolisierung mit Jodabspaltung findet bei Angiografin^{R} nicht statt (51).

2. Hexabrix^{R} (Meglumin-Natrium-Ioxaglat)

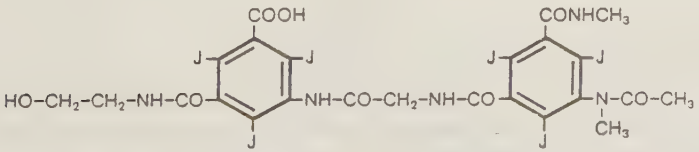

Abb. 7: Strukturformel der Ioxaglinsäure

Eigenschaften: Das Präparat ist ein neueres (1976) ionisches Kontrastmittel, das als injektionsfertige Lösung geliefert wird. Ein Molekül Ioxaglinsäure besitzt 6 Jodatome. Hexabrix^{R} enthält das Natrium- und Megluminsalz der Ioxaglinsäure in wässriger Lösung. 1 ml enthält 393,0 mg Megluminioxaglat und 196,5 mg Natriumioxaglat.

Summenformel:	$C_{24}\ H_{20}\ J_6\ N_5\ O_8$ (Anion)
Molekulargewicht:	1268,0
Jodgehalt:	320 mg/ml
Osmolalität:	600 m Osmol/kg
Indikation:	Arteriografie und Phlebografie
Applikation:	i.v., intraarteriell
Eiweißbindung:	ca. 2,5 % bestimmt durch Gleichgewichtsdialyse (103)
Pharmakokinetik:	Hexabrix^{R} wird schnell über die Niere ausgeschieden (103).

3. Amipaque^{R} (Metrizamid)

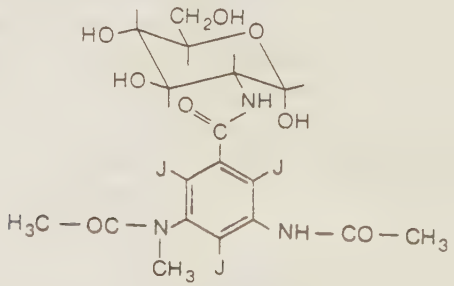

Abb. 8: Strukturformel von Metrizamid

Eigenschaften: Es handelt sich um ein neueres (1976) nichtionisches trijodiertes Kontrastmittel, das als Trockenreinsubstanz in Flaschen zu 3,75 oder 6,75 g geliefert wird. Vor der Anwendung wird Metrizamid mit dem beiliegenden wässrigen Lösungsmittel auf die jeweils gewünschte Konzentration gebracht.

Summenformel:	$C_{18}\ H_{22}\ J_3\ N_3\ O_8$
Chemie:	(2 - (3 - Acetamido - 2,4,6 - trijod - 5 - (N-methyl-acetamido) - benzamido) - 2 deoxy - D - glucose)
Molekulargewicht:	789,1
Jodgehalt:	100-360 mg J/ml je nach Lösungsmittelvolumen. Im Versuch 300 mg J/ml
Osmolalität:	ca. 500 m Osmol/kg
Indikation:	Myelografie, Ventrikulografie, Urografie, Angiografie
Applikation:	i.v. intraarteriell, intrathekal
Eiweißbindung:	Die Serum-Albumin-Bindung, bestimmt durch Gleichgewichtsdialyse, ist, wenn überhaupt vorhanden, nur äußerst gering ($\approx$ 0,3%) (77) bzw. ist gleich Null (15).
Pharmakokinetik:	Amipaque^R wird bei Ratten unverändert innerhalb von 48 Stunden nach i.v. Gabe zu 98 % über die Niere, in kleinen Mengen aber auch über die Galle ausgeschieden (32). Beim Menschen werden innerhalb von 24 Stunden 70 % der injizierten Dosis mit dem Harn ausgeschieden (101).

4. Solutrast^R (Iopamidol)

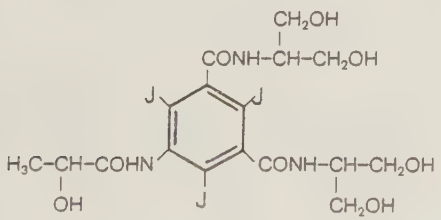

Abb 9: Strukturformel von Iopamidol

Eigenschaften: Iopamidol ist ein kürzlich neuentwickeltes nichtionisches trijodiertes Röntgenkontrastmittel, das als wässrige Lösung injektionsfertig vorliegt. Im Handel sind stabile Zubereitungen mit verschiedenem Jodgehalt. 1 ml Solutrast^{R} 300 enthält 612,4 mg Iopamidol.

Summenformel:	$C_{17}\ H_{22}\ J_3\ N_3\ O_8$
Chemie:	N,N' - Bis [2 - hydroxy - 1 - (hydroxymethyl)ethyl] - 2,4,6 - trijod - 5 - lactamidoisophtalamid
Molekulargewicht:	777,9
Jodgehalt:	Wahlweise 200, 300 oder 370 mg/ml Im Versuch 300 mg/ml
Osmolalität:	616 m Osmol/kg (Solutrast^{R} 300)
Indikation:	Darstellung des arteriellen und venösen Gefäßsystems
Applikation:	i.v. intraarteriell
Eiweißbindung:	Die Plasmaproteinbindung, die durch Gleichgewichtsdialyse bestimmt wurde, ist praktisch gleich Null. Der an Eiweiß gebundene Anteil ist damit zu vernachlässigen (100).
Pharmakokinetik:	Nach i.v. Injektion werden bei Kaninchen und Hunden 50 % der verabreichten Dosis in 30 bzw. 45 min. ausgeschieden. Nach 7 Stunden waren es ca. 95 % der gegebenen Kontrastmitteldosis. Dabei werden 99 % mit dem Urin, der Rest über die Leber eliminiert. Eine Biotransformation im Organismus findet nicht statt. Die biologische Halbwertzeit beträgt beim Menschen nach i.v. Gabe im Mittel 115 Minuten (100).

III. Ergebnisse

A Akute Toxizität (LD_{50})

Abb. 10 zeigt die Dosis-Letalitätskurven für 3-5 Tage alte heterozygote Gunn-Ratten nach s.c. Injektion. Der Prozentsatz der innerhalb 4 Tagen verstorbenen Tiere auf der Ordinate wird aufgetragen gegen die Dosierung der KM auf der Abszisse. Für jedes Präparat ergibt sich eine Kurve ansteigender Letalität bei steigender KM-Dosis. Um die LD_{50} zu bestimmen, wird durch den Punkt 50 auf der Ordinate eine Parallele zur Abszisse gelegt. Daraus ergibt sich für jedes Präparat die Dosierung in ml/kg KG Gunn-Ratte, die von der Hälfte der Versuchstiere nicht überlebt wird. Die Tab. 1 zeigt die ermittelten Werte für die LD_{50} nach s.c. Injektion. Für jedes Kontrastmittel ist dort der Jodgehalt der LD_{50} angegeben. Bei Amipaque^R * und Solutrast^R, die am besten verträglich sind, liegt die LD_{50}(s.c.) um 54 ml/kg KG. Angiografin^R * ist am meisten toxisch und hat eine LD_{50} (s.c.) von 23 ml/kg KG. Die Verträglichkeit von Hexabrix^R liegt etwa in der Mitte, die LD_{50}(s.c.) beträgt hier 39 ml/kg KG. Außer Angiografin^R sind damit alle Präparate wesentlich weniger toxisch als die gallegängigen Kontrastmittel, deren LD_{50} (s.c.) nur etwa 30-60 % der LD_{50} (s.c.) der 3 anderen hier untersuchten Präparate beträgt (30). In Abb. 11 sind die Dosis-Letalitätskurven für 3-5 Tage alte heterozygote Gunn-Ratten nach i.v. Injektion, soweit bestimmbar, dargestellt. Auch hier hat Angiografin^R mit einer LD_{50}(i.v.) von 17 ml/kg KG die größte akute Toxizität. Die LD_{50}(i.v.) von Hexabrix^R liegt bei 21,5 ml/kg KG. Die akute Toxizität ist damit nur geringfügig kleiner. Es fällt

---

* Die Werte und Kurven für die LD_{50} (s.c.) dieser Präparate wurden zwecks besserer Vergleichbarkeit aus der Arbeit von Ehnert (30) übernommen.

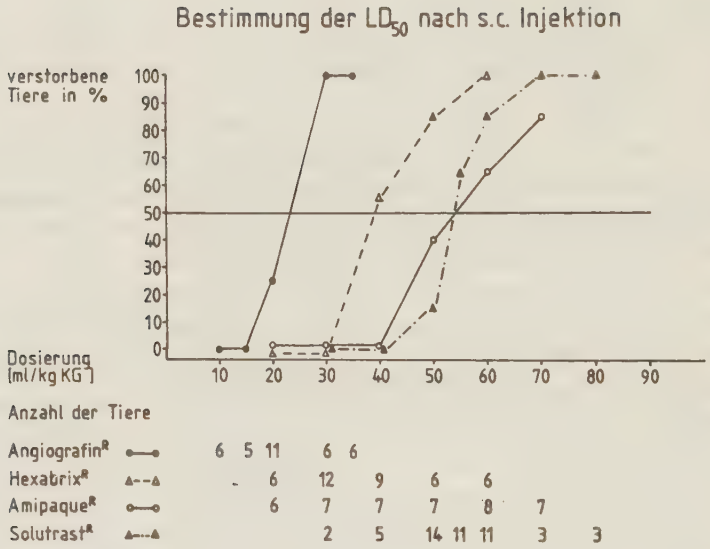

Abb. 10: Dosis-Letalitätskurven für 3-5 Tage alte heterozygote Gunn-Ratten nach s.c. Injektion von 4 Röntgenkontrastmitteln in aufsteigender Dosierung. Kurven für Angiografin^{R} und Amipaque^{R} nach Ehnert (30)

Tab. 1: Akute Toxizität verschiedener Röntgenkontrastmittel bei 3-5 Tage alten heterozygoten Rattenbabies nach subcutaner Injektion. Werte für Angiografin^{R} und Amipaque^{R} nach Ehnert (30)

Kontrastmittel	LD_{50} in ml/kg KG	LD_{50} in g Jod/kgKG
Angiogafin^{R}	23,0	7,04
Hexabrix^{R}	39,0	12,48
Amipaque^{R}	54,0	16,20
Solutrast^{R}	53,5	16,05

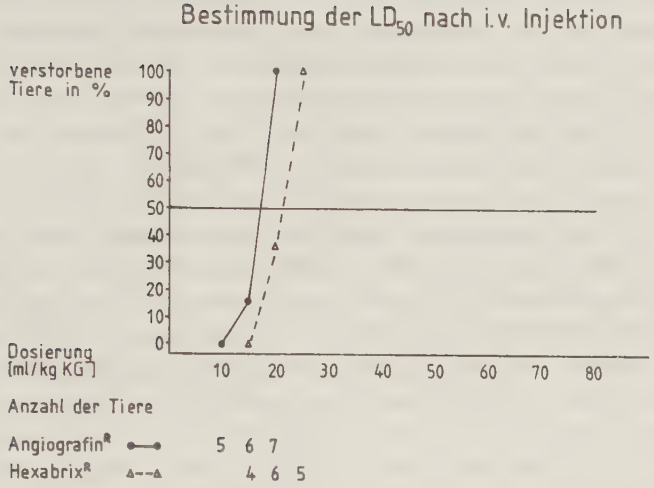

Abb. 11: Dosis-Letalitätskurven für 3-5 Tage alte heterozygote Gunn-Ratten nach i.v. Injektion von 2 Röntgenkontrastmitteln in aufsteigender Dosierung

Tab. 2: Akute Toxizität von 2 Röntgenkontrastmitteln bei 3-5 Tage alten heterozygoten Rattenbabies nach intravenöser Injektion

Kontrastmittel	LD_{50} in ml/kg KG	LD_{50} in g Jod/kg KG
Angiografin®	17,0	5,20
Hexabrix®	21,5	6,88

auf, daß die Kurven in Abb. 11 sehr viel steiler verlaufen als die für die s.c. Toxizität in Abb. 10. Das Überschreiten der noch zu 100 % verträglichen Dosis um nur 10 ml/kg KG i.v. führt bei den beiden ionischen KM Angiografin^{R} und Hexabrix^{R} bereits zu 100 %iger Letalität.

Der Vergleich von Abb. 11 mit Abb. 10 zeigt, daß Angiografin^{R} und besonders Hexabrix^{R} nach i.v. Gabe wesentlich toxischer sind als bei s.c. Gabe.

Die LD_{50}(i.v.) von Angiografin^{R} ist um 6 ml/kg KG kleiner als der s.c. Wert, die LD_{50} (i.v.) von Hexabrix^{R} liegt sogar um 17,5 ml/kg niedriger. Die subcutane Applikation von Hexabrix^{R} täuscht im Vergleich zu Angiografin^{R} weit bessere Verträglichkeit vor, die bei i.v. Gabe nicht besteht. Das deutet auf eine verzögerte Resorption von Hexabrix^{R} aus dem s.c. Depot hin, worauf später noch eingegangen wird. Für Amipaque^{R} und Solutrast^{R} ließen sich keine Dosis-Letalitätskurven nach i.v. Injektion erstellen, da selbst nach der vom Volumen her maximal injizierbaren Dosis von 25 ml/kg KG keines der Tiere starb. Die LD_{50} (i.v.) dieser Präparate dürfte somit im Bereich von 35-40 ml/kg KG und darüber liegen. Die ermittelte LD_{50} (s.c.) übersteigt diesen Schätzwert um etwa 15-20 ml/kg KG. Daher ist auch für die zwei nichtionischen KM anzunehmen, daß i.v. Gabe die akute Toxizität verstärkt. Zusammengefaßt gilt, daß Amipaque^{R} und Solutrast^{R} im Präparatevergleich nach s.c. und i.v. Injektion die geringste akute Toxizität haben. Die Verträglichkeit von Hexabrix^{R} und besonders von Angiografin^{R} ist wesentlich geringer.

In der Dosis 10 ml/kg KG i.v. ($\approx$ 25-30 % der LD_{50}) wurden daher Amipaque^{R} und Solutrast^{R} bei der Bestimmung der LD_{50} von den heterozygoten Gunn-Ratten ausnahmslos gut vertragen und deshalb auch in den Hauptversuchen so dosiert.

Die ionischen Kontrastmittel führten bei gleicher i.v. Dosis bei vielen Tieren sofort zu Nebenwirkungen: Nach Hexabrix^{R}, 10 ml/kg KG i.v. (46 % der LD_{50} (i.v.))

sahen die Ratten kurz nach dem Spritzen cyanotisch aus. Sie erholten sich aber alle nach wenigen Minuten. Die i.v. Hauptversuche wurden deswegen zusätzlich mit der halben Dosis Hexabrix^{R} d.h. 5 ml/kg KG i.v. (= 23 % der LD_{50}(i.v.)) durchgeführt, um Effekte durch Nebenwirkungen auszuschließen. 10 ml/kg KG Angiografin^{R} i.v. (= 59 % der LD_{50}(i.v.)) verursachte in vielen Fällen neben Cyanose sogar Krämpfe und offensichtlich Kreislaufzentralisation. Aus diesem Grunde wurde Angiografin^{R} in den Hauptversuchen von Anfang an nur in der geringeren Dosis von 5 ml/kg KG i.v. (=29,5% der LD_{50} (i.v.)) verabreicht. Die subcutane Injektion von 20 ml/kg KG Kontrastmittel blieb bei allen heterozygoten Tieren ohne sichtbare Nebenwirkungen.

B Serumbilirubin

Die Veränderung der Serumbilirubinkonzentration (SBK) junger homozygoter Gunn-Ratten durch Röntgenkontrastmittel sowie NaCl 0,9 %ig sind im folgenden dargestellt.

Die Diagramme der Abbildungen 12-22 zeigen das Verhalten der Bilirubinwerte im Serum der Versuchstiere in mg/dl vor (Start) sowie 15 min., 30 min., 3 Stunden und 24 Stunden nach der Injektion. Dazu wurden die mittleren Bilirubin-Absolutwerte mit Standardabweichung für die einzelnen Tiergruppen auf der Ordinate gegen die Zeit auf der Abszisse aufgetragen. Durch Verbindung dieser Punkte im Koordinatensystem ergeben sich verschiedene Kurven für den Verlauf der SBK p.inj., die im einzelnen besprochen werden sollen. In den Diagrammen werden unter der Ordinate für alle Termine der Serumbilirubinbestimmungen die Anzahl der dazu herangezogenen Versuchstiere angegeben. Jede Gunn-Ratte lieferte einen Meßwert. In den Tabellen unter den Abbildungen mit den SBK-Verlaufskurven sind die entsprechenden mittleren Zahlenwerte in mg/dl und µmol/l aufgeführt. Daneben erscheinen dort zusätzlich diese Durschnittswerte

in Relativprozent, um einen besseren Vergleich der Ergebnisse unabhängig vom Anfangsserumbilirubin zu ermöglichen.

Grundlage für die Prozentrechnungen ist immer der mittlere Ausgangswert der Serumbilirubinkonzentration der gesamten Tiergruppe, der gleich 100 % gesetzt wurde. Alle Ergebnisse der SBK-Untersuchungen werden ausnahmslos nach diesem Schema dargestellt.

Abb. 12 zeigt den Einfluß von Hexabrix^{R} auf das Serumbilirubin der jungen homozygoten Gunn-Ratte nach s.c. Injektion. Durch die Dosis von 10 ml/kg KG wird der Bilirubinausgangswert im Serum von 10,2 mg/dl nicht verändert. Hexabrix^{R} s.c. hat damit in dieser Dosierung keine größere Wirkung auf die SBK als physiologische Kochsalzlösung nach s.c. Injektion. Deren Einfluß auf die SBK ist bei 10 und 20 ml/kg KG s.c. ebenfalls gleich Null, was schon aus früheren Studien bekannt ist (30, 52). Auf die Erstellung einer NaCl-Kontrollgruppe für die s.c. Hauptversuche wurde deshalb verzichtet. Bei doppelter Dosis von 20 ml/kg KG s.c. führt Hexabrix^{R} nach 30 min. zu einem mäßigen, nach 3 h zu einem unerwartet tiefen Abfall der SBK auf 64 % des Ausgangswertes. Der protrahiert verlaufende Bilirubineffekt deutet auf sehr langsame Resorption von Hexabrix^{R} aus dem s.c. Depot hin (s. Diskussion). Nach 24 Stunden liegt die SBK dann wieder um 2 mg/dl über dem Ausgangswert. Eine solche Zunahme der Serumbilirubinkonzentration an einem Tag ist größer als bei unbehandelten Gunn-Ratten dieses Alters zu erwarten ist (40, 81). Sie ist ähnlich stark in fast allen folgenden Versuchsreihen zu beobachten.

Im Gegensatz zu Hexabrix^{R} wirkt Angiografin^{R} unter gleichen Versuchsbedingungen bereits in einer Dosierung von 10 ml/kg KG s.c. auf die SBK: Durch diese Dosis, so wird berichtet (30), fiel das Serumbilirubin nach 30 min. auf 88 % des O-Wertes. Der 3 h-Wert lag aber wieder über dem Ausgangswert. Höhere Dosen als 10 ml/kg KG Angiografin^{R} s.c. wurden wegen der Toxizität dieser Zubereitung nicht verabreicht. Amipaque^{R} s.c., 10 und 20 ml/kg KG, veränderte

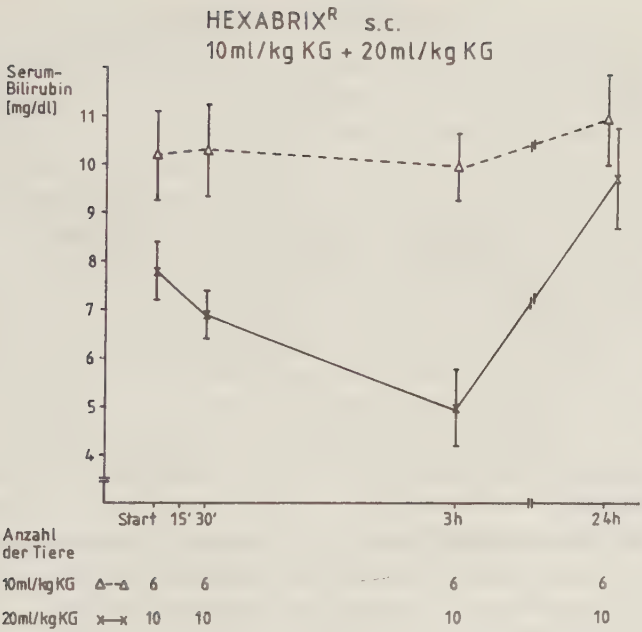

Abb. 12: Durchschnittliche Serumbilirubinkonzentration bei jungen homozygoten Gunn-Ratten vor und nach Injektion von Hexabrix® 10 ml/kg KG (Gruppe A) bzw. 20 ml/kg KG (Gruppe B) s.c.

Tab. 3: Ergebnisse der Serumbilirubinmessung vor und nach Injektion von Hexabrix® 10 ml/kg KG s.c. (Gruppe A) bzw. 20 ml/kg KG (Gruppe B) s.c.

t	Bilirubin Gruppe A			Bilirubin Gruppe B		
	mg / dl	µmol/l	%	mg / dl	µmol/l	%
Start	10,2 ± 0,90	174,4	100	7,8 ± 0,58	133,4	100
30'	10,3 ± 0,95	176,1	101	6,9 ± 0,50	118,0	88
3 h	10,0 ± 0,67	171,0	98	5,0 ± 0,80	85,5	64
24 h	11,0 ± 0,95	188,0	108	9,8 ± 1,05	167,6	116

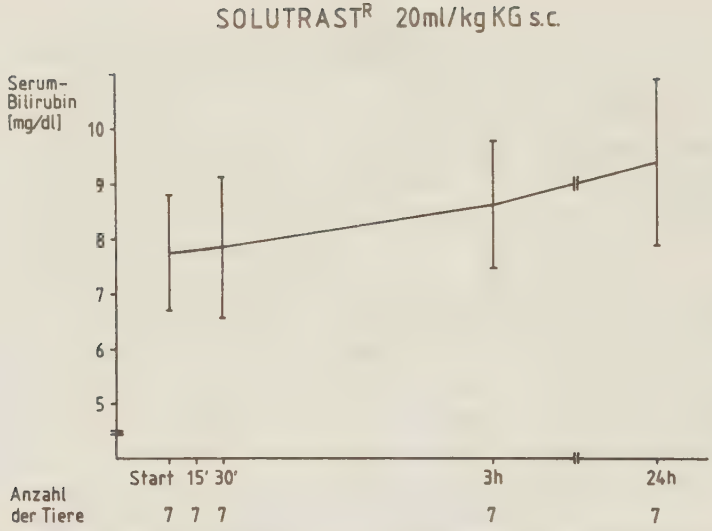

Abb. 13: Durchschnittliche Serumbilirubinkonzentration bei jungen homozygoten Gunn-Ratten vor und nach Injektion von Solutrast® 20 ml/kg KG s.c.

Tab. 4: Ergebnisse der Serumbilirubinmessung vor und nach Injektion von Solutrast® 20 ml/kg KG s.c.

t	Bilirubin		
	mg / dl	µmol/l	%
Start	7,8 ± 1,06	133,4	100
30'	7,8 ± 1,30	133,4	100
3 h	8,6 ± 1,16	147,1	110
24 h	9,4 ± 1,50	160,7	121

den Serumbilirubinwert in derselben Studie (30) nicht.

Solutrast^{R} s.c., dosiert mit 20 ml/kg KG, bleibt ebenfalls ohne Effekt auf die SBK, was in Abb. 13 deutlich wird. Bei 10 ml/kg KG s.c., eine Dosierung, die für Solutrast^{R} nicht vorgenommen wurde, ist erst recht keine Beeinflussung des Serumbilirubins durch dieses Präparat zu erwarten. Zusammengefaßt gilt für die s.c. Studien folgendes: Amipaque^{R} und Solutrast^{R} haben in keiner der verwendeten Dosierungen einen Effekt auf die Serumbilirubinkonzentration, während Angiografin^{R} und Hexabrix^{R} einen deutlichen Serumbilirubinabfall herbeiführen. Die Stärke der Bilirubinverdrängung, die mit diesen Veränderungen gleichgesetzt werden kann, ist aber bei den beiden ionischen KM wegen verschiedener Dosierung und möglicher unterschiedlicher Pharmakokinetik durch die Art der Applikation nicht direkt vergleichbar. Eine Reihung kann deshalb nach den Ergebnissen der s.c. Testreihen nicht stattfinden.

Klärung können nur die i.v. Versuche bringen, die der Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit sind. Abb. 14 zeigt zunächst die Abnahme des Serumbilirubins nach 5 ml/kg KG NaCl 0,9 %ig i.v. bei einer Gruppe von 10 Tieren, die im Mittel 6,8 Tage alt waren. Das Alter der homozygoten Gunn-Ratten streute in dieser Versuchsreihe zwischen 3 und 9 Tagen (s. Tab. 5).

Dies ist aber bei NaCl-Injektionen unerheblich, da hier nur ein Verdünnungseffekt abläuft und mögliche altersbedingte Unterschiede in der Stärke der Bilirubinverdrängung daher nicht auftreten können. Geschwindigkeitsunterschiede zwischen 3 und 9 Tage alten Ratten für die Ausscheidung der injizierten physiologischen Kochsalzlösung über die noch unreifen Nieren sind bis 30 min.p.inj. nicht zu erwarten. Bei menschlichen Neugeborenen dieser Altersstufen ist der Unterschied erst ab 60 min.p.inj. nennenswert (1).

Altersabhängig verschiedene Serumbilirubineffekte durch unterschiedlich lange bestehende Verdünnung des Plasmas

Tab. 5: Altersverteilung der homozygoten Gunn-Ratten bei den i.v. Hauptversuchen

Präparat in ml/kg KG	Mittl. Ausgangs-bilirubin in mg/dl	Anzahl der Versuchstiere									
		Lebensalter in Tagen									
		2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Hexabrix^{R}	8,8-10,4		8		5	3	2		1	3	1
5	6,5- 8,0	4	2	2	3	2	2	4		1	
Angiografin^{R}	9,4			1	4	6					
5	7.2			3	2	3					
Hexabrix^{R}	10,3					2				3	2
10	8,2			4	4	4			1		
Amipaque^{R}	9,7			2	2	4	1				
10	7,3	1		9	2	4					
Solutrast^{R}	10,3			9							
10	7,2			1	9						
NaCl 5	10,1		4					2	4		
NaCl 10	9,0		2			6					
	7,4		5			1					

in vivo sind daher für den interessanten Meßbereich der ersten halben Stunde p.inj. hier ausgeschlossen. Im Diagramm der Abb. 14 erreicht die Kurve nach 30 min. bei 87 % des Ausgangswertes ihren Tiefpunkt. Anschließend steigt die Serumbilirubinkonzentration durch allmähliche renale Ausscheidung der injizierten Salzlösung wieder an. Ähnlich verlaufen die Kurven in Abb. 15, in der der Verlauf der mittleren Serumbilirubinwerte von 2 Tiergruppen nach 10 ml/kg KG NaCl 0,9 % i.v. dargestellt ist. Die homozygoten Rattenbabies sind in 2 Gruppen mit hohem (Gruppe I) und niedrigem (Gruppe II) Ausgangsserumbilirubin eingeteilt. Für die Auswertung der i.v. Hauptversuche wird übrigens diese Einteilung in allen folgenden Grafiken und Wertetabellen beibehalten. Die nach Yeary und Mitarb. (98) zu erwartenden Unterschiede in der Stärke der Bilirubinver-

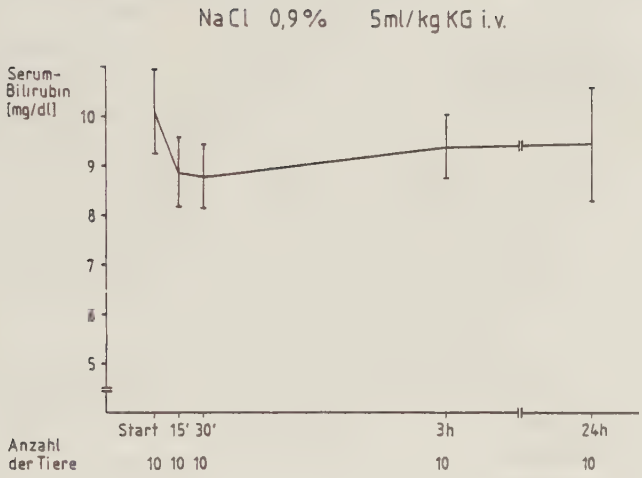

Abb. 14: Durchschnittliche Serumbilirubinkonzentration bei jungen homozygoten Gunn-Ratten vor und nach Injektion von NaCl 0,9 %ig 5 ml/kg KG i.v.

Tab. 6: Ergebnisse der Serumbilirubinmessung vor und nach Injektion von NaCl 0,9 %ig 5 ml/kg KG i.v.

t	Bilirubin		
	mg / dl	µmol/l	%
Start	10,1 ± 0,84	172,7	100
15'	8,9 ± 0,70	152,2	88
30'	8,8 ± 0,63	150,5	87
3 h	9,4 ± 0,64	160,7	93
24 h	9,5 ± 1,18	162,5	94

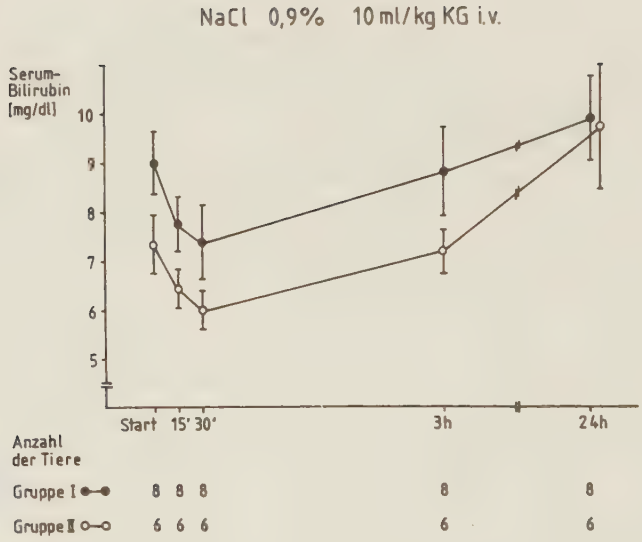

Abb. 15: Durchschnittliche Serumbilirubinkonzentration bei 2 Gruppen junger homozygoter Gunn-Ratten vor und nach Injektion von NaCl 0,9 %ig 10 ml/kg KG i.v.

Tab. 7: Ergebnisse der Serumbilirubinmessung vor und nach Injektion von NaCl 0,9 %ig 10 ml/kg KG i.v.

t	Bilirubin Gruppe I			Bilirubin Gruppe II		
	mg / dl	µmol/l	%	mg / dl	µmol/l	%
Start	9,0 ± 0,64	153,9	100	7,4 ± 0,61	126,5	100
15'	7,7 ± 0,55	131,7	86	6,4 ± 0,43	109,4	86
30'	7,4 ± 0,77	126,5	82	6,0 ± 0,38	102,6	81
3 h	8,8 ± 0,91	150,5	98	7,2 ± 0,46	123,1	97
24 h	9,9 ± 0,86	169,3	110	9,7 ± 1,25	165,9	131

drängung abhängig von der Höhe der SBK vor Injektion können so sichtbar werden. Abb. 15 zeigt, daß nach NaCl i.v. in Gruppe I die SBK um 1,6 mg/dl absinkt, in Gruppe II aber nur um 1,4 mg/dl. In beiden Gruppen wird dann nach 3 h wieder 98 % des Serumbilirubinausgangswertes erreicht. Der SBK-Abfall durch Serumverdünnung ist damit bei höherem Ausgangsserumbilirubin absolut größer als bei niedrigerem. In Prozent ergeben sich natürlich gleichgroße Werte (s. Tab. 7). Denn egal, ob eine Probe höherer oder niedrigerer Stoffkonzentration um den gleichen Faktor mit physiol. Kochsalzlösung verdünnt wird, muß die Abnahme der Konzentration trotz unterschiedlicher Absolutwerte prozentual gleich sein. Da die Dosierung wie beschrieben grundsätzlich in ml/kg KG erfolgte, wirkte bei allen Tieren mit gleicher i.v. Dosis NaCl 0,9 %ig derselbe "Verdünnungsfaktor" auf das Blutplasma als Injektionsverteilungsraum. Bei Vergleich von Abb. 14 und Gruppe I in Abb. 15 ist dosisabhängig bei 10 ml/kg KG i.v. erwartungsgemäß ein größerer Verdünnungseffekt auf die SBK erkennbar als bei der halben Dosis. Der Unterschied beträgt 5 % bei 30 min.p.inj.. Die bisherigen Ergebnisse unterstreichen die Sensibilität der photometrischen Bilirubin-Meßmethode. Die Versuchstiere der Kochsalzmeßreihen wurden für die statistische Aufarbeitung der i.v. Hauptversuche als Kontrollgruppe herangezogen. Die 15'-30'- und 3 h-Meßwerte der SBK nach i.v. NaCl 0,9 %-Injektion dienten dabei als Vergleichswerte zu den zeitlich korrespondierenden Serumbilirubinwerten nach i.v. Injektion der gleichen Dosis KM. Tiere der Gruppe I nach KM-Injektion wurden dabei, wenn möglich, immer mit der NaCl-Gruppe I verglichen. Entsprechendes galt für Gruppe II. Maßgebend waren nicht die absoluten Serumbilirubinmeßwerte, sondern immer die Einzelwerte in Prozent vom Serumbilirubinanfangswert des analogen Versuchstiers. Zur Untersuchung des Einflusses von KM-Dosis, Versuchstieralter und Grad des Ikterus auf das Ausmaß der Serumbilirubineffekte fand in einigen Fällen ein statistischer Vergleich der Meßwerte einer KM-Gruppe mit denen einer anderen statt.

Abb. 16 gibt die Änderung der Serumbilirubinkonzentration wieder, die durch i.v. Injektion von Hexabrix^{R}, 10 ml/kg KG, verursacht werden. Diese Dosis führte als einzige innerhalb der Hauptversuche zu sichtbaren Nebenwirkungen (Cyanose). Trotzdem sollen die Ergebnisse wegen des starken Bilirubineffekts besprochen werden. Es kommt hier zum tiefsten Absinken der mittleren SBK-Werte aus allen Versuchsreihen. Die Meßwerte fallen innerhalb von 15 min.p.inj. durchschnittlich auf 63 % des mittleren Ausgangswertes von 10,3 mg/dl in Gruppe I und auf 67 % von 8,2 mg/dl in Gruppe II. Nach 30 min. sinken die Relativwerte sogar auf 59 % (Gr. I) und 66 % (Gr. II). Nach 3 h ist der Anfangswert in beiden Gruppen noch nicht wieder erreicht. Dieser ist 24 h p.inj. überschritten. Die Unterschiede zu den Kochsalzkontrollgruppen sind in beiden Tiergruppen bei 15 min.p.inj. hochsignifikant ($^{+++}$), bei 30 min. noch stark signifikant ($^{++}$). Nach 3 Stunden liegen die Serumbilirubinwerte der Gr. I immer noch stark signifikant unter der Kontrolle. In Gr. II läßt sich zu diesem Zeitpunkt statistisch kein Unterschied zum Kochsalzeffekt mehr nachweisen (ns). Es muß angemerkt werden, daß hier in der Gruppe I die sonst weitgehend eingehaltene Altersbegrenzung von 4-6 Tagen für die i.v. Hauptversuche aus versuchstechnischen Gründen überschritten werden mußte (s. Tab. 5, S. 40). Um herauszufinden, ob dies die Versuchsergebnisse wesentlich beeinflussen konnte, wurde deshalb zusätzlich bei 2-11 Tage alten homozygoten Gunn-Ratten ein Altersvergleich der Wirkung von Hexabrix^{R} i.v. auf das Serumbilirubin durchgeführt. Darauf wird weiter unten eingegangen.

Zunächst soll die Abb. 17 besprochen werden. Hier ist zu sehen, wie Amipaque^{R} in der Dosis von 10 ml/kg KG i.v. die SBK der jungen Gunn-Ratte verändert. Die Serumbilirubin-Prozentwerte fallen auf 75 % (15') und 72 % (30') in Gruppe I und auf gleichbleibend 75 % zwischen 15 und 30 min.p.inj. in Gruppe II (s. Tab. 9). Nach 3 Stunden sind die Meßwerte in beiden Gruppen wieder auf dem Ausgangsniveau, nach 24 h weit darüber.

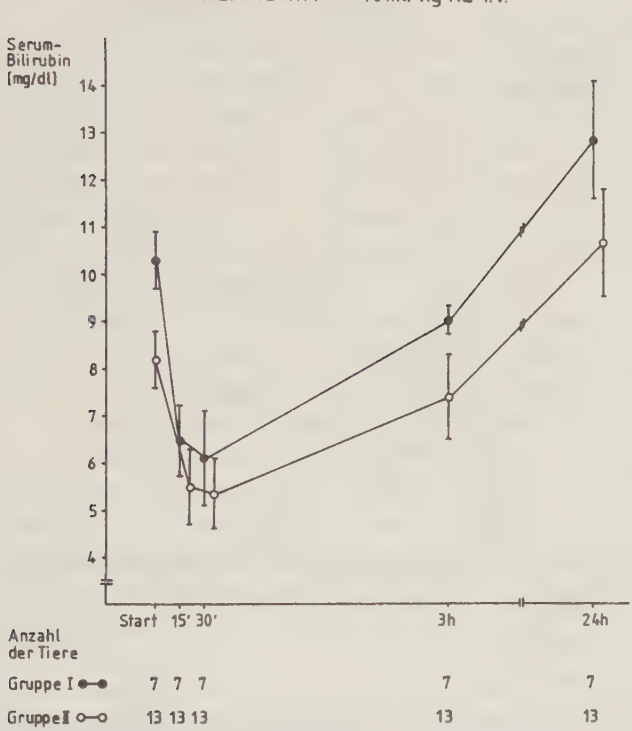

Abb. 16: Durchschnittliche Serumbilirubinkonzentration bei 2 Gruppen junger homozygoter Gunn-Ratten vor und nach Injektion von Hexabrix^R 10 ml/kg KG i.v.

Tab. 8: Ergebnisse der Serumbilirubinmessung vor und nach Injektion von Hexabrix^R 10 ml/kg KG i.v.

t	Bilirubin Gruppe I				Bilirubin Gruppe II			
	mg / dl	µmol/l	%	p	mg / dl	µmol/l	%	p
Start	10,3 ± 0,62	176,1	100		8,2 ± 0,61	140,2	100	
15'	6,5 ± 0,73	111,2	63	($^{+++}$)	5,5 ± 0,82	94,1	67	($^{+++}$)
30'	6,1 ± 1,01	104,3	59	($^{++}$)	5,4 ± 0,77	92,3	66	($^{++}$)
3 h	9,0 ± 0,31	153,9	87	($^{++}$)	7,4 ± 0,89	126,5	90	(ns)
24 h	12,9 ± 1,26	220,6	125		10,7 ± 1,16	183,0	130	

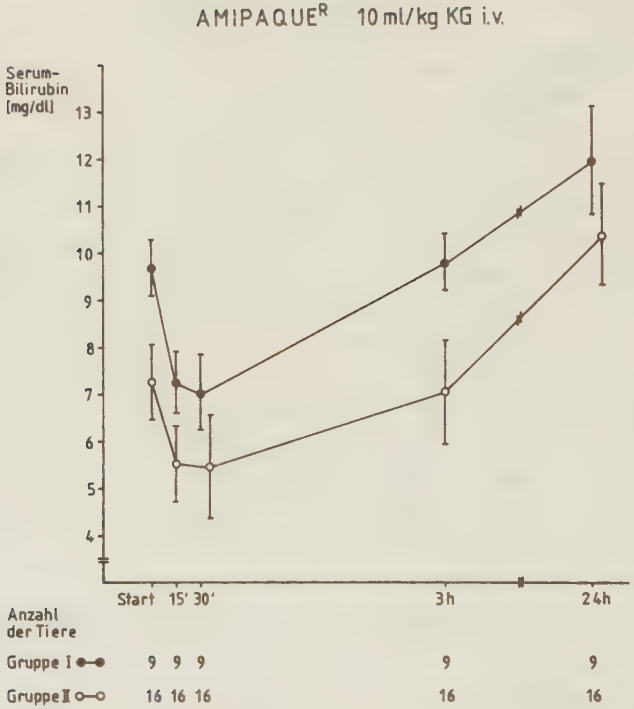

Abb. 17: Durchschnittliche Serumbilirubinkonzentration bei 2 Gruppen junger homozygoter Gunn-Ratten vor und nach Injektion von Amipaque® 10 ml/kg KG i.v.

Tab. 9: Ergebnisse der Serumbilirubinmessung vor und nach Injektion von Amipaque® 10 ml/kg KG i.v.

t	Bilirubin Gruppe I				Bilirubin Gruppe II			
	mg / dl	µmol/l	%	p	mg / dl	µmol/l	%	p
Start	9,7 ± 0,58	165,9	100		7,3 ± 0,82	124,8	100	
15'	7,3 ± 0,65	124,8	75	(+++)	5,5 ± 0,83	94,1	75	(+++)
30'	7,0 ± 0,80	119,7	72	(++)	5,5 ± 1,08	94,1	75	(ns)
3 h	9,8 ± 0,62	167,6	101		7,0 ± 1,09	119,7	96	
24 h	11,9 ± 1,14	203,5	123		10,4 ± 1,04	177,8	142	

Die Unterschiede zur Kontrollgruppe sind bei 15 min. in Gr. I und Gr. II wie nach der gleichen i.v. Dosis Hexabrix^{R} hochsignifikant ($^{+++}$), absolut und in Prozent aber viel kleiner als dort. 30 min.p.inj. liegt die mittlere Serumbilirubinkonzentration der Gr. I immer noch tiefer als bei den Kochsalzvergleichstieren ($^{++}$). In Gr. II jedoch ergibt sich für die 30 min-Werte, die durchschnittlich 75 % vom Anfangswert betragen, wegen der großen Standardabweichung keine Signifikanz mehr.

Die Abb. 18 gibt eine Darstellung der SBK homozygoter Gunn-Ratten nach i.v. Injektion von 10 ml/kg KG Solutrast^{R} . Die Verringerung der Anfangswerte in beiden Gruppen ist zwar deutlich, aber nur geringfügig größer als bei den NaCl-Kontrolltieren. Anhand der vorliegenden Stichproben läßt sich statistisch bis 30 min. nach Injektion kein Unterschied zu den Kontrollgruppen belegen. Der Verlauf der Serumbilirubinkonzentration p.inj. wird damit in diesem Zeitraum fast ausschließlich durch den Verdünnungseffekt der injizierten KM-Dosis bestimmt.

Angiografin^{R} i.v. senkt das Serumbilirubin homozygoter Gunn-Ratten in der Dosierung von 5 ml/kg KG in beiden Gruppen stärker als Amipaque^{R} i.v. in doppelter Dosis, aber geringer als Hexabrix^{R} 10 ml/kg KG i.v.. Das folgt aus dem Kurvenverlauf von Abb. 19. Die Zahlenwerte sind Tab. 11 zu entnehmen. Die SBK sinkt auf 73 % (Gr. I) und 68 % (Gr. II) in der ersten halben Stunde p.inj. Nach 3 Stunden sind die Anfangswerte noch nicht wieder erreicht. Bis 24 h p.inj. steigt das Serumbilirubin in der üblichen Weise weiter an. Für 15 und 30 min.p.inj. sind in beiden Gruppen die Unterschiede zur NaCl-Kontrolle auf dem 0,1 % Niveau statistisch hochsignifikant gesichert.

Den Einfluß des Lebensalters der homozygoten Babyratten auf das Ausmaß der durch KM-Gabe eintretenden Bilirubinveränderungen im Serum demonstriert eindrucksvoll der Hexabrix^{R}-Altersvergleich (s. Abb. 20-22 und Tab. 12-14). Die Dosis beträgt dabei immer 5 ml/kg KG i.v.. Am deutlichsten

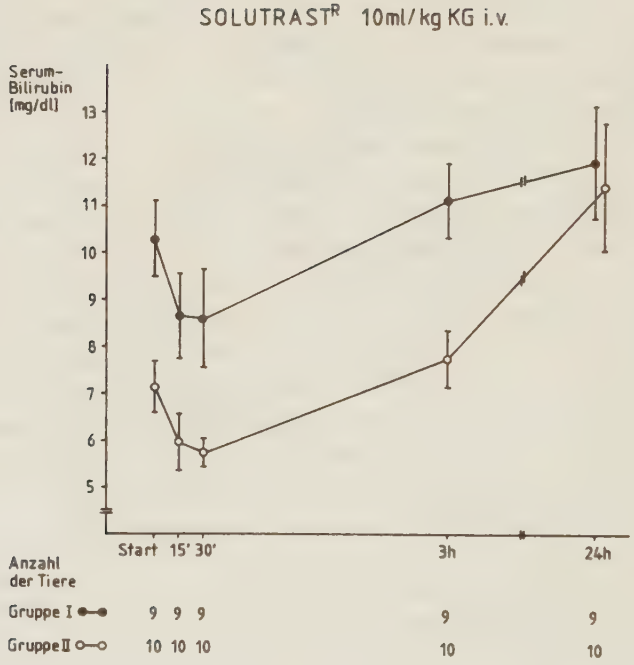

Abb. 18: Durchschnittliche Serumbilirubinkonzentration bei 2 Gruppen junger homozygoter Gunn-Ratten vor und nach Injektion von Solutrast® 10 ml/kg KG i.v.

Tab. 10: Ergebnisse der Serumbilirubinmessung vor und nach Injektion von Solutrast® 10 ml/kg KG i.v.

t	Bilirubin Gruppe I				Bilirubin Gruppe II			
	mg / dl	µmol/l	%	p	mg / dl	µmol/l	%	p
Start	10,3 ± 0,81	176,1	100		7,2 ± 0,53	123,1	100	
15'	8,6 ± 0,90	147,1	83	(ns)	6,0 ± 0,59	102,6	83	(ns)
30'	8,6 ± 1,07	147,1	83	(ns)	5,7 ± 0,31	97,5	79	(ns)
3 h	11,1 ± 0,78	189,8	108		7,7 ± 0,58	131,7	107	
24 h	11,9 ± 1,20	203,5	116		11,4 ± 1,38	194,9	158	

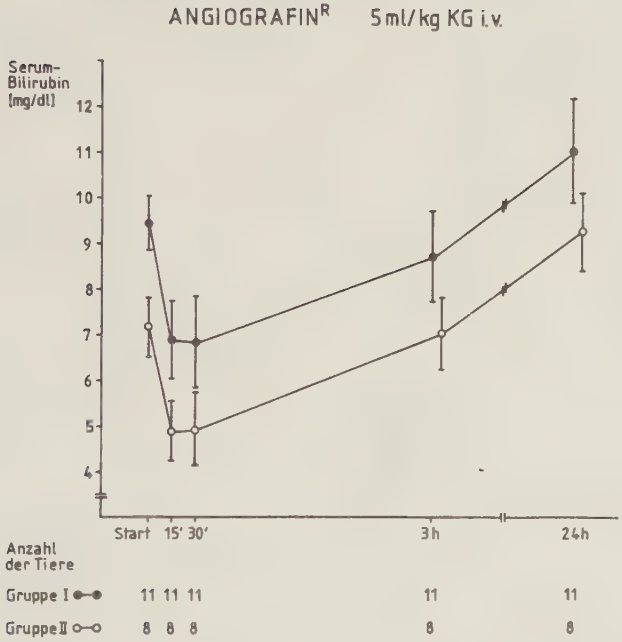

Abb. 19: Durchschnittliche Serumbilirubinkonzentration bei 2 Gruppen junger homozygoter Gunn-Ratten vor und nach Injektion von Angiografin^R 5 ml/kg KG i.v.

Tab. 11: Ergebnisse der Serumbilirubinmessung vor und nach Injektion von Angiografin^R 5 ml/kg KG i.v.

t	Bilirubin Gruppe I				Bilirubin Gruppe II			
	mg / dl	µmol/l	%	p	mg / dl	µmol/l	%	p
Start	9,4 ± 0,62	160,7	100		7,2 ± 0,66	123,1	100	
15'	6,9 ± 0,85	118,0	73	$(^{+++})$	4,9 ± 0,67	83,8	68	$(^{+++})$
30'	6,9 ± 0,99	118,0	73	$(^{+++})$	4,9 ± 0,80	83,8	68	$(^{+++})$
3 h	8,7 ± 0,98	148,8	93		7,1 ± 0,81	121,4	99	
24 h	11,1 ± 1,16	189,8	118		9,4 ± 0,85	160,7	131	

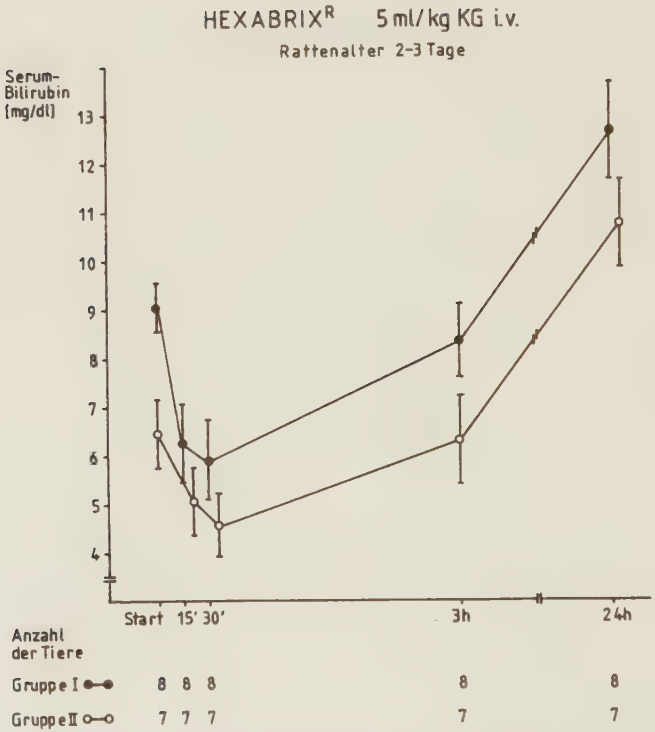

Abb. 20: Durchschnittliche Serumbilirubinkonzentration bei 2 Gruppen 2-3 Tage alter homozygoter Gunn-Ratten vor und nach Injektion von Hexabrix^R 5 ml/kg KG i.v.

Tab. 12: Ergebnisse der Serumbilirubinmessung vor und nach Injektion von Hexabrix^R 5 ml/kg KG i.v.

t	Bilirubin Gruppe I				Bilirubin Gruppe II			
	mg / dl	µmol/l	%	p	mg / dl	µmol/l	%	p
Start	9,0 ± 0,52	153,9	100		6,5 ± 0,72	111,2	100	
15'	6,3 ± 0,81	107,7	70	($^{+++}$)	5,1 ± 0,70	87,2	78	($^{++}$)
30'	5,9 ± 0,79	100,9	66	($^{+++}$)	4,6 ± 0,65	78,7	71	($^{+++}$)
3 h	8,7 ± 0,77	143,6	93		6,3 ± 0,90	107,7	97	
24 h	12,7 ± 1,01	217,2	141		10,7 ± 0,89	183,0	165	

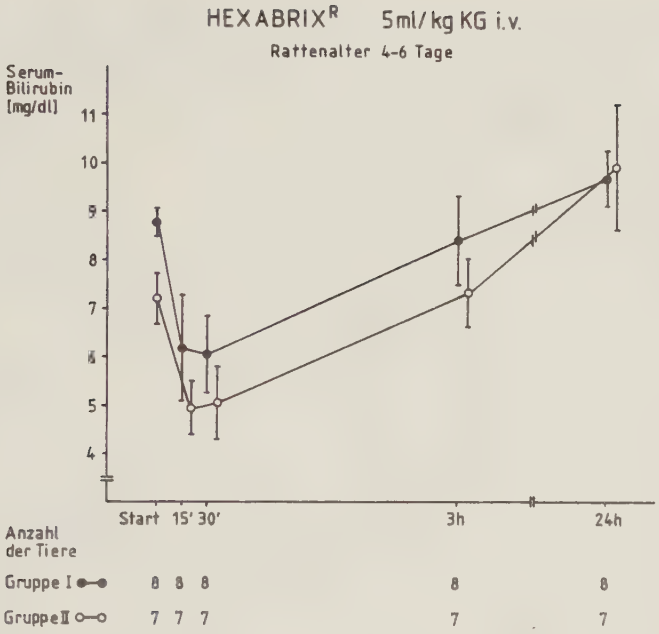

Abb. 21: Durchschnittliche Serumbilirubinkonzentration bei 2 Gruppen 4-6 Tage alter homozygoter Gunn-Ratten vor und nach Injektion von Hexabrix® 5 ml/kg KG i.v.

Tab. 13: Ergebnisse der Serumbilirubinmessung vor und nach Injektion von Hexabrix® 5 ml/kg KG i.v.

t	Bilirubin Gruppe I				Bilirubin Gruppe II			
	mg / dl	µmol/l	%	p	mg / dl	µmol/l	%	p
Start	8,8 ± 0,52	150,5	100		7,2 ± 0,53	123,1	100	
15'	6,2 ± 1,08	106,0	70	$(^{++})$	5,0 ± 0,55	85,5	69	$(^{+++})$
30'	6,1 ± 0,79	104,3	69	$(^{++})$	5,0 ± 0,76	85,5	69	$(^{+++})$
3 h	8,4 ± 0,93	143,6	95		7,3 ± 0,70	124,8	101	
24 h	9,7 ± 0,57	165,9	110		9,9 ± 1,30	169,3	138	

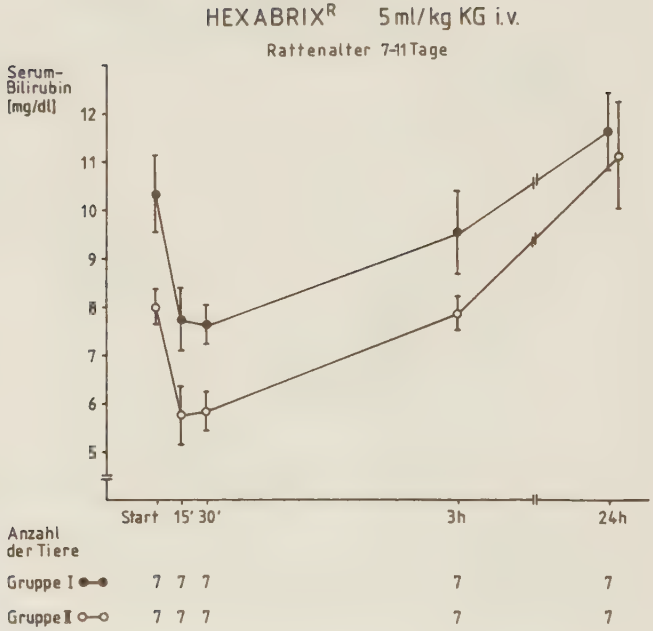

Abb. 22: Durchschnittliche Serumbilirubinkonzentration bei 2 Gruppen 7-11 Tage alter homozygoter Gunn-Ratten vor und nach Injektion von Hexabrix^{R} 5 ml/kg KG i.v.

Tab. 14: Ergebnisse der Serumbilirubinmessung vor und nach Injektion von Hexabrix^{R} 5 ml/kg KG i.v.

t	Bilirubin Gruppe I				Bilirubin Gruppe II			
	mg / dl	µmol/l	%	p	mg / dl	µmol/l	%	p
Start	10,4 ± 0,82	177,8	100		8,0 ± 0,35	136,8	100	
15'	7,7 ± 0,66	131,7	74	($^{++}$)	5,8 ± 0,63	99,2	73	($^{+++}$)
30'	7,6 ± 0,41	130,0	73	($^{+++}$)	5,8 ± 0,39	99,2	73	($^{+++}$)
3 h	9,5 ± 0,84	162,5	91		7,8 ± 0,35	133,4	98	
24 h	11,6 ± 0,79	198,4	112		11,0 ± 1,08	188,1	138	

werden die Unterschiede in Gruppen mit hohem Ausgangsserumbilirubin. Nach 30 min. fällt die mittlere SBK in der Gruppe I der Altersklasse 7-11 Tage auf 73 % des Anfangswertes, bei 4-6 Tage alten Gunn-Ratten der Gruppe I schon auf 69 % und bei Gruppe I der 2-3 Tage alten Gunn-Ratten sogar bis auf 66 % des Ausgangswertes ab. Das Serumbilirubin sinkt also bei den ganz jungen Tieren um 7 % (bezogen auf den Anfangswert) stärker ab als bei den 7-11 Tage alten. Der Unterschied zwischen den beiden Gruppen ist stark signifikant ($p \leq 0{,}01$). Ein ähnlicher Altersunterschied ist auch bei niedriger Anfangs-SBK, allerdings nur als Tendenz, darstellbar. Hier reicht die Menge Albumin offenbar in allen Altersklassen aus, um relativ viel Bilirubin auch unter Medikamenteneinfluß in der Bindung zu halten.

Die Ergebnisse des Altersvergleichs lassen sich wie folgt zusammenfassen: Die Senkung der Serumbilirubinkonzentration durch Hexabrix^{R} i.v., Dosis 5 ml/kg KG fällt mit zunehmendem Alter der homozygoten Gunn-Babyratten z.T. signifikant geringer aus. Bei hohen Serumbilirubinwerten vor der Injektion ist die nachgewiesene Altersabängigkeit stärker ausgeprägt als bei niedrigen. Die Gruppe der 2-3 Tage alten homozygoten Gunn-Ratten der Gruppe I, d.h. die Tiere, die am jüngsten und gleichzeitig stark ikterisch sind, reagieren auf 5 ml/kg KG Hexabrix^{R} i.v. mit der größten SBK-Abnahme aller Altersgruppen.

Es wird klar, daß der Faktor Lebensalter bei der Interpretation der Meßwerte der Serumbilirubinuntersuchungen berücksichtigt werden muß. Im Fall der Hexabrix^{R}-Meßserie mit dem zu hohen Durchschnittsalter (9 Tage, s.o.) wird die Aussage der Versuchsergebnisse durch die Schlußfolgerung aus dem Altersvergleich sogar noch unterstrichen: Hexabrix^{R} steht danach als die Substanz mit dem stärksten Effekt auf die SBK da. Hätten die Ratten in diesem Versuch, wie sonst üblich, ein Alter von 4-6 Tagen gehabt, so wäre der starke Serumbilirubinsturz sogar noch größer gewesen.

Wie ist nun die bilirubinsenkende Potenz von Angiografin^{R} gegenüber der von Hexabrix^{R} einzustufen? Der direkte Vergleich der beiden Substanzen ist nur bei gleicher Dosierung möglich. Dazu ist die Meßreihe Hexabrix^{R} i.v. an 4-6 Tage alten Tieren (s. Abb. 21, Tab. 13) geeignet, wo die Dosis wie bei Angiografin^{R} i.v. 5 ml/kg KG beträgt. Hexabrix^{R} führt dort in Gruppe I zu einem Serumbilirubinabfall auf 70 % nach 15 min. ($^{++}$) und 69 % nach 30 min. ($^{++}$). Der entsprechende Effekt nach der gleichen i.v. Dosis Angiografin^{R} ist fast genauso groß (s. Abb. 19 und Tab. 11).

Tab. 15: Reihung der Röntgenkontrastmittel nach abnehmender Wirkung auf das Serumbilirubin der 4-6 Tage alten Gunn-Ratte nach i.v. Injektion im Vergleich zum Effekt durch Injektion von NaCl 0,9 %ig i.v.
Gruppe I Mittleres Anfangsserumbilirubin 8,8-10,3 mg/dl
Gruppe II Mittleres Anfangsserumbilirubin 7,2-8,2 mg/dl

Injizierte Substanz (i.v.)		Mittlere Abnahme der Serumbilirubinkonzentration in% des Anfangswertes zwischen 15' und 30' p.inj.					
		Gruppe I			Gruppe II		
		um%	auf%	Rang	um%	auf%	Rang
Angiografin^{R}	5 ml/kg KG	27	73	3	32	68	2
Hexabrix^{R}	5 ml/kg KG	30	70	2	31	69	3
(Hexabrix^{R}	10 ml/kg KG)	(39)	(61)	(1)	(34)	(66)	(1)
Amipaque^{R}	10 ml/kg KG	26	74	4	25	75	4
Solutrast^{R}	10 ml/kg KG	17	83	5	19	81	5
NaCl	10 ml/kg KG	16	84	6	16	84	6
NaCl	5 ml/kg KG	12	88	7	-	-	-

Bei den weniger ikterischen Ratten der Gruppe II senkt Angiografin^{R} das Serumbilirubin sogar geringfügig mehr als Hexabrix^{R}, so daß im Mittel praktisch kein Unterschied zwischen den Substanzen besteht.

Tab. 15 faßt die bisherigen Ergebnisse, die für einen Vergleich der KM untereinander wichtig sind, noch einmal etwas verändert zusammen.

Dazu wurden die SBK-Durchschnittswerte aller 15' und 30'-Messungen pro KM-Dosis mit dem jeweiligen Anfangswert verglichen.

Für die Stärke der bilirubinsenkenden Wirkung der Kontrastmittel im Serum 4-6 Tage alter homozygoter Gunn-Ratten ergibt sich folgende Rangordnung: Auf Platz 1 und 2 liegen Angiografin^{R} und Hexabrix^{R} mit den stärksten Serumbilirubineffekten. Es folgen 3. Amipaque^{R} mit geringer Wirkung und schließlich 4. Solutrast^{R} mit fast ausschließlichen Volumeneffekten auf die Serumbilirubinkonzentration. Die genannte Reihenfolge ist, wie Tab. 15 zeigt, für Gr. I und Gr. II die gleiche, d.h. vom Einfluß der Höhe der Anfangs-SBK unabhängig.

Die Frage einer wahrscheinlichen Dosisabhängigkeit der beschriebenen Serumbilirubineffekte bei einem Kontrastmittel unter sonst gleichen Bedingungen konnte bei Hexabrix^{R} überprüft werden. Gegenübergestellt wurden die Gruppe I aus der Altersvergleichsserie 7-11 Tage mit der Dosis 5 ml/kg KG i.v. (s. Tab. 14) und die Gruppe I aus der Serie Hexabrix^{R} mit der doppelten i.v. Dosis (s. Tab. 8). Außerdem wurden die Kontrollwerte berücksichtigt (s. Tab. 6 und Tab. 7). Bei der höheren Dosierung von 10 ml/kg KG Hexabrix^{R} i.v. ist der reine Bilirubineffekt, d.h. der Abfall der SBK in Prozent des Ausgangswertes unter die entsprechenden Kontrollwerte 15 und 30 min.p.inj. um 7 % stärker als bei 5 ml/kg KG i.v. Die Unterschiede sind bei 15 und 30 min. signifikant ($p \leqq 0{,}05$). Verdünnungseffekte spielen dafür keine Rolle. Der zweite Vergleich wurde zwischen Gr. II aus der Altersvergleichsserie 4-6 Tage mit der Dosis 5 ml/kg KG i.v. (s. Abb. 21 und Tab. 13) und der Gr. II aus der Serie Hexabrix^{R} 10 ml/kg KG i.v. durchgeführt

(s. Abb. 16 und Tab. 8). Dabei ergibt sich das gleiche Bild, nur nicht so ausgeprägt: Die höhere Dosis von 10 ml/kg KG Hexabrix^{R} führt zu einer Verstärkung des Serumbilirubinabfalls unter das Kontrollniveau um 4 % (15') und 1 % (30'). Die Unterschiede sind nicht signifikant und damit nur als Tendenz aufzufassen. Es ist festzuhalten, daß die Verstärkung des bilirubinsenkenden Effekts durch Verdoppelung der Dosis bei den stärker ikterischen Gunn-Rattenbabies wesentlich deutlicher zum Ausdruck kommt und dort signifikant ist. Bei Ratten mit niedriger Anfangs-SBK ist der dosisbedingte Unterschied gering.

Auffällig ist, daß in fast allen Versuchsreihen das Serumbilirubin bei derselben KM-Dosis von hohen Werten aus stärker (in mg/dl) abfällt als von niedrigen. Außer bei Hexabrix^{R} ist dafür immer der Serumverdünnungseffekt durch die i.v. Injektion verantwortlich (s.o.). Hexabrix^{R} allerdings führt unabhängig davon nachweislich zu z.T. signifikant größerem SBK-Abfall bei den stärker ikterischen Gunn-Ratten. Nach Abzug der Serumverdünnung, die höchstens dem Kochsalzeffekt entspricht (s. Kap. Hkt), bleibt nämlich in allen Versuchsreihen mit Hexabrix^{R} ein größerer absoluter Serumbilirubinabfall von höheren Werten aus bestehen, der der Bilirubinverdrängung aus dem Intravasalraum entspricht. In den Versuchsreihen Hexabrix^{R} 10 ml/kg KG i.v. und 5 ml/kg KG i.v., Lebensalter 2-3 Tage, in denen es zu den stärksten Serumbilirubinveränderungen durch dieses KM kommt, sind die Unterschiede zwischen Gr. I und Gr. II am größten und statistisch signifikant. Die Bilirubinverdrängung durch Hexabrix^{R} vermindert dort die Serumbilirubinkonzentration bis 30 min.p.inj. bei den stark ikterischen Ratten (Gr. I) um 1,0 mg/dl ($p \leqq 0{,}05$) bzw. um 0,9 mg/dl ($p \leqq 0{,}05$) mehr als bei den weniger ikterischen Tieren (Gr. II).

Beachtenswert sind auch die folgenden Nebenbefunde: 1. Bei den mehr ikterischen Ratten (Gr. I) ist der absolute Anstieg der SBK über den Ausgangswert innerhalb 24 h p.inj. in fast allen Meßreihen deutlich geringer als bei den Tieren mit niedriger Anfangs-SBK (Gr. II). Wegen der höheren Bili-

rubin/Albumin-Ratio bei hoher SBK erscheint in Gr. I wahrscheinlich ein wesentlicher Anteil des in 24 h p.inj. anfallenden Bilirubins nicht im Serum, sondern wird an extravasale Rezeptoren gebunden. In Gr. II stehen dagegen im Plasma genug freie Albuminbindungsstellen zur Aufnahme dieser Bilirubinmenge zur Verfügung.

2. Die KM beeinflussen das Ausmaß der Bilirubinkonzentrationszunahme im Serum innerhalb 24 h p.inj. unterschiedlich stark (s. Tab. 16):

Tab. 16: Serumbilirubinanstieg über den Anfangswert in mg/dl innerhalb von 24 h nach i.v. Injektion verschiedener Rö-KM bei 4-6 Tage alten homozygoten Gunn-Ratten der Gruppe II

Injizierte Substanz (i.v.)	Differenz (mg/dl) Serumbilirubin - Serumbilirubin 24 h p. inj. Start
Angiografin^{R} 5 ml/kg KG	+ 2,2
Hexabrix^{R} 5 ml/kg KG	+ 2,7
Hexabrix^{R} 10 ml/kg KG	+ 2,5
Amipaque^{R} 10 ml/kg KG	+ 3,1
Solutrast^{R} 10 ml/kg KG	+ 4,2
NaCl 0,9 %ig 10 ml/kg KG	+ 2,3

Nach i.v. Injektion der KM, die zu den stärksten intravasalen Bilirubinverlusten führen, fällt der SBK-Wiederanstieg in 24 h über den Ausgangswert hinaus am geringsten aus, denn die SBK steigt von sehr niedrigen 30 min-Werten aus an. Umgekehrt liegt das Serumbilirubin 24 h nach i.v. Injektion von Solutrast^{R}, das kaum mit dem Bilirubin interferiert, am weitesten über dem Startwert.

3. Alle verwendeten KM-Dosen verursachen in 24 h p.inj. einen SBK-Zuwachs, der deutlich über dem altersphysiologischen SBK-Anstieg bei unbehandelten homozygoten Gunn-

Ratten von etwa + 1 mg/dl/24 h (40, 78, 49) liegt. Möglicherweise fördern die KM über ihre Nebenwirkungen (Dehydratation durch osmotische Diurese) das Ansteigen der SBK. Odell et al. (69) beschrieben eine Hemmung der Bilirubinausscheidung bei homozygoten Gunn-Ratten im Durstzustand. Die Autoren führten den dabei beobachteten SBK-Anstieg der Ratten auf Hämokonzentration und unzureichende Durchblutung der Bilirubin-Exkretionsorte zurück. Der prozentuale SBK-Anstieg der dehydrierten Tiere überstieg dabei bei weitem die Konzentrationszunahme der Serum-Proteine, die Bilirubin binden. Dieser Vorgang ist in meinen Versuchen am ehesten nach i.v. Gabe von Hexabrix^{R} zu erwarten, das von allen Präparaten am meisten zu Hämokonzentration bei Ausscheidung der KM-Dosis führt (s. Kap. Hkt). Tatsächlich erreicht die SBK 24 h nach Injektion von Hexabrix^{R} 10 ml/kg KG i.v. in Gr. I und Gr. II trotz zunächst starkem Absinken wieder sehr hohe Werte. Der beschriebene Mechanismus spielt sicher auch eine Rolle bei Hexabrix^{R} 5 ml/kg KG i.v., Rattenalter 2-3 Tage, wo der SBK-Anstieg über den Anfangswert bis 24 h p.inj. ebenfalls in beiden Gruppen sehr groß ist: + 3,7 mg/dl/24 h (Gr. I), + 4,2 mg/dl/24 h (Gr. II). Die Werte liegen viel höher als bei älteren Tieren mit derselben KM-Dosis (s. Abb. 20, 21, 22). Der Wasserverlust durch dieses Präparat ist gerade bei jungen Gunn-Ratten besonders stark (s. Kap. Hkt).

C Hämatokrit

Bei jeder Blutprobe wurde neben dem Serumbilirubin auch der Hämatokrit (Hkt) der Gunn-Ratten bestimmt. Die Ergebnisse sind in den nachfolgenden Tabellen 17-25 aufgeführt. Die Gruppeneinteilung der Versuchstiere, die für die Serumbilirubinuntersuchungen üblich war, wurde beibehalten. Die mittleren Hkt-Werte der Versuchsserien mit Standardabweichung sind dort in der linken Spalte angegeben. Daneben erscheinen diese Durchschnittswerte in Prozent des

jeweiligen Hämatokritmittelwertes vor Injektion, der gleich 100 % gesetzt wurde. Die Ergebnisse werden dadurch auch bei stark unterschiedlichen Absolutwerten vergleichbar. In allen Meßreihen nimmt der Hkt mit zunehmender Zahl der Blutentnahmen kontinuierlich ab. Zeichen einer medikamentenbedingten Hämolyse traten dabei in keinem Fall auf. Eine vorstellbare Korrelation von hoher Serumbilirubinkonzentration und niedrigem Hämatokrit vor Injektion war wie auch bei Johnson und Mitarb. (40) nicht feststellbar. Der Volumeneffekt von reinen i.v. Kochsalzinjektionen (s. Tab. 17 und 18) senkt den Hkt wie die SBK (s. oben) um etwa 10 % des Anfangswertes in der ersten halben Stunde p.inj.. Der Wiederanstieg des Hkt auf den Ausgangswert erfolgt in den Versuchen nicht, obwohl die injizierte Salzlösung nach 3 h sicher vollständig über die Nieren der Ratten ausgeschieden ist. Der Verdünnungseffekt in bezug auf die Serumbilirubinkonzentration ist nämlich zu diesem Zeitpunkt bereits fast vorüber (s. Abb. 15, Tab. 7). Der 3 Stunden p.inj. fortbestehende deutliche Hkt-Abfall auf ungefähr 80 % des Anfangswertes kann damit nicht Ausdruck noch andauernder Plasmaverdünnung sein. Als verantwortlich dafür ist viel eher der Blutverlust durch die 3 Blutabnahmen pro Versuchstier bis zu diesem Zeitpunkt anzusehen. Insgesamt ist in allen KM-Serien zu sehen, daß die mittleren Hkt-Werte der homozygoten Gunn-Ratten zu keinem Meßtermin unter den Werten der Kochsalzkontrollgruppe liegen. Nach Angiografin^{R} 5 ml/kg KG i.v. entsprechen die Hkt-Werte denen der gleichvolumigen NaCl-Kontrollwerte (s. Tab. 17, 22). Das gleiche gilt für Amipaque^{R} 10 ml/kg KG i.v. in der ersten halben Stunde p.inj.. Nach 3 h liegen die mittleren Hkt-Werte aber um ca. 10 % höher als die der NaCl-Kontrollgruppe (s. Tab. 18, 20). Der Unterschied ist in Gruppe I stark signifikant ($p \leqq 0{,}01$). Nach Solutrast^{R} 10 ml/kg KG i.v. liegen die Hkt-Mittelwerte nach 30 min. wie auch nach 3 Stunden bereits um 8-12 % höher als die Kontrollwerte (S. Tab. 18, 21).

Auch hier sind die Unterschiede in Gruppe I stark signifikant (30', 3 h). Der Anfangswert von 100 % wird jedoch im Mittel nicht überschritten. Anders jedoch bei Hexabrix^{R} i.v.: Hier kommt es schon nach 15 Minuten fast überall bei den 2-6 Tage alten Tieren zum deutlichen Anstieg des Hkt über den Anfangswert hinaus.

Insgesamt korreliert die Stärke der Hämokonzentration p.inj. mit der Geschwindigkeit der Ausscheidung der einzelnen Präparate (s. Abschnitt II. C sowie S. 89). Die Hkt-Werte in Prozent liegen nach Hexabrix^{R} 10 ml/kg KG i.v. bei 4-6 Tage alten Gunn-Ratten im Vergleich zur NaCl-Kontrollgruppe um + 8 % (15'), + 21 % (30') und + 23 % (3 h) höher (s. Gr. II in Tab. 19, 18). Die Unterschiede sind nach 30 min. stark signifikant und nach 3 Stunden sogar hochsignifikant gesichert.

Nach 5 ml/kg KG Hexabrix^{R} i.v. (s. Tab. 24, Gr. II) ist dieser Hkt-Effekt bei gleichalten Tieren zwar abgeschächt, aber immer noch signifikant zu beobachten: Der mittlere Hämatokrit liegt dann um 13 % nach 15 Minuten ($p \leqq 0{,}05$) und 30 Minuten ($p \leqq 0{,}001$) und um 15 % nach 3 Stunden ($p \leqq 0{,}01$) über dem der Kochsalz-Kontrolle (s. Tab. 17). Die höhere Dosis Hexabrix^{R} führt damit zu stärkerer Hämokonzentration. Nur nach 15 Minuten liegt der prozentuale Hkt-Anstieg über die Werte der NaCl-Kontrolle nach 10 ml/kg KG Hexabrix^{R} i.v. niedriger als nach 5 ml/kg KG. Hier überwiegt offenbar der Verdünnungseffekt durch das kurz zuvor injizierte doppelt so große Kontrastmittelvolumen. Die Hämokonzentration durch Hexabrix^{R} fällt um so intensiver aus, je jünger die Versuchstiere bei i.v. Injektion waren: Innerhalb 30 min. nach i.v. Gabe von 5 ml/kg KG Hexabrix^{R} steigt bei den 2-6 Tage alten homozygoten Gunn-Ratten der Hkt signifikant stärker an als bei den 7-11 Tage alten Ratten.

In der Gruppe I aus Tab. 23 (Lebensalter 2-3 Tage) liegt der mittlere Hkt hochsignifikant um +16 % (15') und + 15 % (30') höher als die entsprechenden Kochsalz-

Vergleichswerte aus Tab. 17. Bei den älteren Tieren (Lebensalter 7-11 Tage) ist der Unterschied zwischen dem Hkt nach Hexabrix^{R} i.v. und dem nach i.v. Kochsalz-Injektion viel geringer (s. Tab. 25, 17). Er beträgt + 1 % (15') und + 8 % (30'). Die Unterschiede zwischen den beiden Altersgruppen im direkten Wertvergleich sind bei 15 min. stark signifikant ($p \leqq 0{,}01$) (s. Tab. 23,25 Gr. I). Auch 4-6 Tage alte Gunn-Ratten reagieren unter gleichen Bedingungen bis 30 min.p.inj. mit einem signifikant höheren Hkt-Anstieg als die 7-11 Tage alten (s. Tab. 24, 25, Gr. I): $p \leqq 0{,}05$ (15') und $p \leqq 0{,}001$ (30').

In den IIer Gruppen ist dieser Einfluß des Alters der Versuchstiere auf den Grad der Hämokonzentration durch KM nicht eindeutig nachweisbar. Sobald die Gunn-Ratten älter als 6 Tage sind, scheint die Flüssigkeitsbalance auch unter Kontrastmittel-Einfluß stabil zu sein. Selbst die hohe Dosis von 10 ml/kg KG Hexabrix^{R} wirkt auf den Hkt kaum anders als gleichvolumige i.v. NaCl-Injektion: Für die Hexabrix^{R}-Gruppe I aus Tab. 19, die am Versuchstag ausnahmsweise 9,1 Tage alt war, ist der Hkt-Unterschied zur Kontrollgruppe aus Tab. 18 minimal, in Gruppe II (Alter 4-6 Tage) dagegen beträchtlich. Die Ursache für den großen Wasserverlust der ganz jungen Gunn-Ratten bei der Ausscheidung von Hexabrix^{R} ist sicher die unreife Nierenfunktion der neugeborenen Tiere. Typisch für die neonatale Niere ist die empfindliche glomerulotubuläre Balance zwischen noch niedriger glomerulärer Filtrationsrate (GFR) und eingeschränkter Rückresorptionskapazität für Wasser und Elektrolyte (19, 61). Beide Größen wachsen im Laufe der postnatalen Entwicklung gleichmäßig an (19).

Die Rückresorption von Na^{+} und H_2O ist in der Niere homozygoter Gunn-Ratten zusätzlich durch eine Bilirubinnephropathie gestört (70, 69). Freies Bilirubin reichert sich nämlich etwa 100 mal stärker in den Nierenpapillen homozygoter Gunn-Ratten an als in dem korrespondierenden Stück Nierenrinde (70). Dadurch senkt Bilirubin, wahrschein-

lich über eine Beeinflussung der Membranpermeabilität des tubulären Epithels (69), die Rückresorption von Na^+ und Harnstoff im aufsteigenden Teil der Henle'schen Schleife (70). Die allgemeine Fähigkeit von Bilirubin, die Integrität von Zellmembranen zu verändern, ist bekannt (90). Durch die Bilirubin-Wirkung auf die Niere kann die normale Hypertonizität der Papille bei den homozygoten Gunn-Ratten nicht hergestellt werden. Eine Beeinträchtigung der Wasserrückresorption in den Sammelrohren ist die Folge (70). Intravenöse KM-Gabe dürfte die GFR schlagartig wegen Erhöhung des Plasmavolumens und dadurch auch des Blutdrucks heraufsetzen. Die GFR ist auch vom Blutdruck abhängig (29). Gleichzeitig ist bei der KM-Ausscheidung durch osmotische Diurese (19, 50) das im proximalen Tubulus rückresorbierte Flüssigkeitsvolumen in Gegenwart des nichtresorbierbaren Kontrastmittel-Makromoleküls vermindert (61). Beides muß beim neonatalen Organismus um so stärker zu Dehydratation führen, je weniger die tubulären Funktionen entwickelt sind. Die Fähigkeit zur Urinkonzentration ist bei Mensch und Tier zur Zeit der Geburt am geringsten und nimmt erst langsam zu (61, 28, 45). Dafür spielt auch die Zufuhr von Eiweiß eine Rolle. Je jünger die Ratten im Versuch sind, um so weniger haben sie bisher davon aufgenommen. Die Hypoproteinämie der jungen Gunn-Ratte ist bekannt (39, 81). Hohe vorherige Proteinzufuhr erhöhte auch bei neugeborenen Kindern während der osmotischen Diurese durch Mannitol die Urinkonzentration über verstärkte tubuläre Rückresorption von freiem Wasser in der Niere (28).

Tab. 17: Ergebnisse der Hämatokritmessungen vor und nach Injektion von NaCl 0,9 %ig 5 ml/kg KG i.v. bei jungen homozygoten Gunn-Ratten

t	Mittl. Serumbilirubin$_{Start}$ Hkt	n=10 = 10,1 mg/dl $\frac{Hkt \cdot 100}{Hkt_{Start}}$ (%)
Start	39 ± 2,4	100
15'	36 ± 3,1	92
30'	35 ± 2,5	90
3 h	29 ± 2,2	74
24 h	27 ± 3,9	69

Tab. 18: Ergebnisse der Hämatokritmessungen vor und nach Injektion von NaCl 0,9 %ig 10 ml/kg KG i.v. bei 2 Gruppen junger homozygoter Gunn-Ratten

t	Gruppe I n=8 Mittl. Serumbilirubin$_{Start}$= 9,0 mg/dl Hkt	 $\frac{Hkt \cdot 100}{Hkt_{Start}}$ (%)	Gruppe II n=6 Mittl. Serumbilirubin$_{Start}$= 7,4 mg/dl Hkt	 $\frac{Hkt \cdot 100}{Hkt_{Start}}$ (%)
Start	41 ± 2,4	100	40 ± 4,1	100
15'	39 ± 1,8	95	36 ± 3,0	90
30'	39 ± 1,9	95	34 ± 2,1	85
3 h	28 ± 2,0	68	25 ± 2,8	63
24 h	29 ± 2,4	71	24 ± 2,4	60

Tab. 19: Ergebnisse der Hämatokritmessungen vor und nach Injektion von Hexabrix^{R} 10 ml/kg KG i.v. bei 2 Gruppen junger homozygoter Gunn-Ratten

t	Gruppe I n=7 Mittl. Serumbilirubin$_{Start}$= 10,3 mg/dl Hkt	 $\frac{Hkt \cdot 100}{Hkt_{Start}}$ (%)		Gruppe II n=13 Mittl. Serumbilirubin$_{Start}$= 8,2 mg/dl Hkt	 $\frac{Hkt \cdot 100}{Hkt_{Start}}$ (%)	
Start	39 ± 4,3	100		35 ± 2,3	100	
15'	37 ± 3,2	95	(ns)	35 ± 3,3	98	(ns)
30'	38 ± 2,9	97	(ns)	37 ± 3,7	106	(++)
3 h	31 ± 2,5	79	(ns)	30 ± 4,3	86	(+++)
24 h	25 ± 1,6	64		27 ± 3,3	77	

Tab. 20: Ergebnisse der Hämatokritmessungen vor und nach Injektion von Amipaque^{R} 10 ml/kg KG i.v. bei 2 Gruppen junger homozygoter Gunn-Ratten

t	Gruppe I n=9 Mittl. Serumbilirubin$_{Start}$= 9,7 mg/dl		Gruppe II n=16 Mittl. Serumbilirubin$_{Start}$= 7,3 mg/dl	
	Hkt	$\frac{Hkt \cdot 100}{Hkt_{Start}}$ (%)	Hkt	$\frac{Hkt \cdot 100}{Hkt_{Start}}$ (%)
Start	39 ± 5,2	100	41 ± 4,0	100
15'	37 ± 3,7	95	36 ± 3,4	88
30'	37 ± 3,0	95	36 ± 3,8	88
3 h	30 ± 3,1	77 (++)	29 ± 2,8	71 (ns)
24 h	25 ± 4,4	64	22 ± 3,1	54

Tab. 21: Ergebnisse der Hämatokritmessungen vor und nach Injektion von Solutrast^{R} 10 ml/kg KG i.v. bei 2 Gruppen junger homozygoter Gunn-Ratten

t	Gruppe I n=9 Mittl. Serumbilirubin$_{Start}$= 10,3 mg/dl		Gruppe II n=10 Mittl. Serumbilirubin$_{Start}$= 7,2 mg/dl	
	Hkt	$\frac{Hkt \cdot 100}{Hkt_{Start}}$ (%)	Hkt	$\frac{Hkt \cdot 100}{Hkt_{Start}}$ (%)
Start	39 ± 2,7	100	36 ± 3,1	100
15'	37 ± 3,4	95	35 ± 2,9	97
30'	40 ± 4,3	103 (++)	35 ± 5,2	97 (ns)
3 h	30 ± 3,3	77 (++)	27 ± 4,6	75 (ns)
24 h	28 ± 2,9	72	27 ± 2,5	75

Tab. 22: Ergebnisse der Hämatokritmessungen vor und nach Injektion von Angiografin® 5 ml/kg KG i.v. bei 2 Gruppen junger homozygoter Gunn-Ratten

t	Gruppe I n=11 Mittl. Serumbilirubin$_{Start}$= 9,4 mg/dl		Gruppe II n=8 Mittl. Serumbilirubin$_{Start}$= 7,2 mg/dl	
	Hkt	$\frac{Hkt \cdot 100}{Hkt_{Start}}$ (%)	Hkt	$\frac{Hkt \cdot 100}{Hkt_{Start}}$ (%)
Start	37 ± 2,7	100	39 ± 3,0	100
15'	35 ± 3,3	95	37 ± 3,4	95
30'	35 ± 2,4	95	36 ± 4,5	92
3 h	30 ± 2,8	81	29 ± 2,7	74
24 h	29 ± 2,6	78	27 ± 4,5	69

Tab. 23: Ergebnisse der Hämatokritmessungen vor und nach Injektion von Hexabrix® 5 ml/kg KG i.v. bei 2 Gruppen 2-3 Tage alter homozygoter Gunn-Ratten

t	Gruppe I n=8 Mittl. Serumbilirubin$_{Start}$= 9,0 mg/dl		Gruppe II n=7 Mittl. Serumbilirubin$_{Start}$= 6,6 mg/dl	
	Hkt	$\frac{Hkt \cdot 100}{Hkt_{Start}}$ (%)	Hkt	$\frac{Hkt \cdot 100}{Hkt_{Start}}$ (%)
Start	38 ± 2,3	100	41 ± 1,7	100
15'	41 ± 2,6	108 (+++)	39 ± 2,9	95 (ns)
30'	40 ± 2,7	105 (+++)	38 ± 2,5	93 (ns)
3 h	29 ± 2,3	76 (ns)	29 ± 3,4	71 (ns)
24 h	32 ± 3,5	84	29 ± 4,3	71

Tab. 24: Ergebnisse der Hämatokritmessungen vor und nach Injektion von Hexabrix^{R} 5 ml/kg KG i.v. bei 2 Gruppen 4-6 Tage alter homozygoter Gunn-Ratten

	Gruppe I n=8 Mittl. Serumbilirubin$_{Start}$= 8,8 mg/dl		Gruppe II n=7 Mittl. Serumbilirubin$_{Start}$= 7,2 mg/dl	
t	Hkt	$\frac{Hkt \cdot 100}{Hkt_{Start}}$ (%)	Hkt	$\frac{Hkt \cdot 100}{Hkt_{Start}}$ (%)
Start	35 ± 3,8	100	38 ± 3,7	100
15'	38 ± 4,3	109 ($^{++}$)	40 ± 4,0	105 ($^{+}$)
30'	37 ± 2,4	106 ($^{+++}$)	39 ± 4,0	103 ($^{+++}$)
3 h	29 ± 1,2	83 ($^{+}$)	34 ± 5,3	89 ($^{++}$)
24 h	26 ± 2,1	74	30 ± 4,5	79

Tab. 25: Ergebnisse der Hämatokritmessungen vor und nach Injektion von Hexabrix^{R} 5 ml/kg KG i.v. bei 2 Gruppen 7-11 Tage alter homozygoter Gunn-Ratten

	Gruppe I n=7 Mittl. Serumbilirubin$_{Start}$= 10,4 mg/dl		Gruppe II n=7 Mittl. Serumbilirubin$_{Start}$= 8,0 mg/dl	
t	Hkt	$\frac{Hkt \cdot 100}{Hkt_{Start}}$ (%)	Hkt	$\frac{Hkt \cdot 100}{Hkt_{Start}}$ (%)
Start	41 ± 4,1	100	35 ± 6,1	100
15'	38 ± 2,8	93 (ns)	35 ± 4,2	100 (ns)
30'	40 ± 2,6	98 ($^{+++}$)	35 ± 3,6	100 (ns)
3 h	30 ± 2,8	73 (ns)	31 ± 5,5	89 ($^{++}$)
24 h	25 ± 2,2	61	28 ± 1,7	80

D Gewichtsentwicklung

In der Abb. 23 ist das Wachstumsverhalten von 32 homozygoten Gunn-Ratten nach einmaliger i.v. Injektion von 5 oder 10 ml/kg KG NaCl 0,9 %ig und anschließender 5maliger Blutentnahme graphisch dargestellt. Das Lebensalter auf der Abszisse ist aufgetragen gegen das mittlere Gewicht mit Standardabweichung auf der Ordinate. Zur Erstellung der Kurve wurden 290 Gewichtsbestimmungen durchgeführt. Die über 10 Tage alten Tiere wurden nicht mehr täglich gewogen, so daß ein Teil der Tagesgewichte als Mittelwerte errechnet wurde . Es war nicht erkennbar, daß das Wachstum der Gunn-Ratten vor und nach i.v. NaCl-Injektion von der Stärke des Ikterus abhing, so daß auf eine Unterteilung dieser Tiere in 2 Gruppen mit verschiedenen Ausgangsserumbilirubinwerten zur Zeit der Injektion verzichtet wurde. In dem für meine Untersuchungen wichtigen Zeitraum vom 3. - 15. Lebenstag verläuft die Kurve nahezu linear, mit einem leichten Knick am 6. Tag, von dem ab die Steigung geringfügig zunimmt. Dies entspricht der schon früher (49) gemachten Beobachtung, daß die homozygote Gunn-Ratte bis zum 6. Lebenstag geringer an Gewicht zunimmt als danach. Die Streubreite der Gewichte von Tieren verschiedener und auch gleicher Würfe vergrößert sich mit zunehmendem Alter immer mehr. Das ist an dem Anwachsen der Standardabweichungen der Tagesmittelwerte erkennbar. Dieser Sachverhalt ist bekannt (94, 49, 52). Im einzelnen beträgt die mittlere tägliche Gewichtszunahme zwischen 0,4 g vom 3. auf den 4. Tag und max. 1,8 g an den Folgetagen. Auffällig ist der geringe Gewichtsanstieg bei den 3 Tage alten Tieren innerhalb der ersten 24 Stunden p.inj.. Vom 4. auf den 5. Tag nimmt das Gewicht dann viel stärker zu. Ein ähnlich großer Wachstumsunterschied zwischen dem Zeitpunkt unmittelbar nach i.v. Injektion und später findet sich bei der Betrachtung der Gewichtsentwicklung älterer Tiere nicht. Der Schluß liegt nahe, daß der Streß durch die Prozedur der i.v. In-

jektion um so größer ist, je jünger die Versuchstiere sind. Über längere Wachstumsperioden hinweg beträgt die Gewichtszunahme 7,62 g (4→10 Tage) sowie 11,32 g (3→12 Tage).

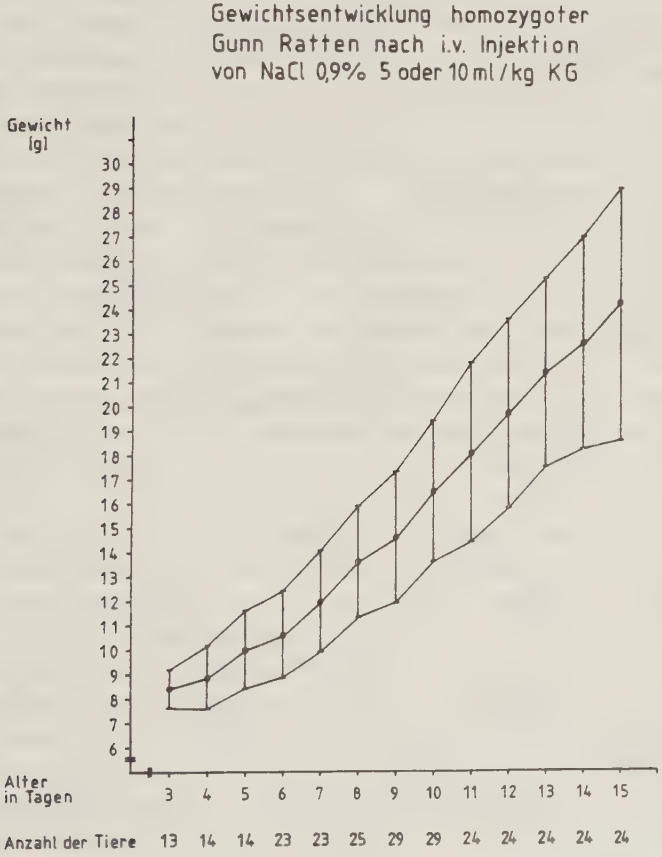

Abb. 23: Wachstumskurve junger homozygoter Gunn-Ratten nach einmaliger Injektion von NaCl 0,9 %ig 5 ml oder 10 ml/kg KG i.v. am 3., 4., 6., 8. oder 9. Lebenstag.

Die Werte sind kleiner als die entsprechenden Vergleichswerte für homozygote Gunn-Ratten aus früheren Untersuchungen: 8,81 g (4→10 Tage), 805 Wägungen (49) sowie 15,51 g (3→12 Tage), 98 Wägungen (52). Der Grund für diese Unterschiede liegt sicherlich in den verschiedenen Versuchsbedingungen, denen die Tiere in den einzelnen Studien trotz gleicher Aufzuchtbedingungen ausgesetzt waren. Bei Laniado (52) bekamen die beobachteten Ratten ausschließlich einmal NaCl 10 ml/kg KG s.c. / die, bei Korn (49) bereits eine Medikamenteninjektion s.c. und eine Blutabnahme von 0,08 ml aus dem Schwanz. In meinen Versuchen erhielt die homozygote Gewichtskontrollgruppe, die gleichzeitig Kontrollgruppe für die Bilirubinuntersuchungen war, NaCl 0,9 %ig i.v.. Zusätzlich wurde innerhalb 24 h p.inj. 5 mal Blut abgenommen, was mit einem Blutverlust von 5 x ca. 0,08 ml ≙ ca. 0,40 ml verbunden war. Das entspricht immerhin 40 % des Blutvolumens einer 10 g schweren Ratte bei einem angenommenen Gesamtblutvolumen von etwa 100 ml/kg KG. Die größere Belastung der von mir untersuchten homozygoten Tiere ist offensichtlich und erklärt hinreichend die vergleichsweise schlechte Gewichtsentwicklung.

Der Wachstumsrückstand zu unbehandelten heterozygoten gleichaltrigen Gunn-Ratten muß noch größer sein. Das wurde in der vorliegenden Arbeit allerdings nicht nachgeprüft, weil dafür genügend Hinweise aus der Literatur vorliegen. Schon Gunn (36) sowie Johnson et al. (41) haben darauf hingewiesen, daß homozygote Tiere weniger rasch zunehmen als heterozygote. Als Ursache des Gewichtsrückstandes der homozygoten Ratten wurde der Kernikterus mit zentral ausgelösten Schwierigkeiten bei der Nahrungsaufnahme angenommen (41). Heterozygote Jungtiere können davon nicht betroffen sein, so daß ihre Entwicklung deshalb der der normalen jungen Ratte gleichkommt (39, 94). Dort verläuft die Gewichtszunahme fast völlig linear. Mit 10 Tagen beträgt das mittlere Gewicht 21,2 g (94), ein Wert, der zu diesem Zeitpunkt auch von der heterozygoten Gunn-Ratte erreicht

wird (39). Das Wachstumsdefizit der hier untersuchten homozygoten Gunn-Ratten ist deutlich (s. Abb. 23). Am 5. Tag sind diese um ca. 2 g, am 10. Tag im Durchschnitt bereits 4 g leichter als normale Ratten (94), die den heterozygoten Gunn-Ratten gleichgesetzt werden können.

Ziel der von mir vorgenommenen Gewichtsvergleiche zwischen homozygoten Gunn-Ratten nach i.v. NaCl-Injektion und i.v. KM-Injektion ist es, zusätzlich Wachstumsstörungen innerhalb 4 Tagen p.inj., abhängig von Art und Dosis der KM darzustellen. Für Medikamente mit starker Bilirubinverdrängung ist die wachstumshemmende Wirkung auf homozygote Gunn-Ratten durch Intensivierung des Kernikterus bekannt (5). Besonders nach der Injektion von Sulfonamiden an homozygote Gunn-Ratten, Dosis ca. 50 % der LD_{50} , wurde ein deutliches Zurückbleiben der 4-Tages-Gewichtszunahme um 1,7 g (Gantrisin^{R}) und 2,5 g (Durenat^{R}) hinter dem Erwartungswert von 5,46 $\pm$ 2,65 g beschrieben (5).

Bei der Erstellung der Gewichtstabellen in dieser Arbeit wurden nur solche Tiere berücksichtigt, die den Beobachtungszeitraum von 4 Tagen überlebten. Die Zahl der vorher verstorbenen Tiere war allerdings minimal: lediglich nach Hexabrix^{R} 10 ml/kg KG i.v. verstarben 2 homozygote Rattenbabies von insgesamt 25, nach Amipaque^{R} 10 ml/kg KG i.v. ein Tier von 30, sowie ein Tier von 33 aus der Gruppe Angiografin^{R} 5 ml/kg KG i.v.. Es handelt sich in allen Fällen um sehr junge Ratten mit Untergewicht und überdurchschnittlich starkem Serumbilirubinabfall p.inj. oder Blutverlust bei Injektion (1 Fall). In Tab. 26 und Tab. 27 ist die Gewichtsentwicklung innerhalb von 4 Tagen nach KM-Gabe dargestellt. Die Unterteilung der einzelnen Gruppen in jeweils eine Untergruppe mit hoher (Gr. I) und niedriger (Gr. II) SBK vor der i.v. Injektion wurde beibehalten. Unterschiede in der Gewichtszunahme in Abhängigkeit von unterschiedlich starker Bilirubinverdrängung durch ein KM bei verschiedengradigem Ikterus werden so darstellbar. Pro Testreihe ist neben der Anzahl der Tiere das Durch-

schnittsgewicht der Gruppe bei Injektion und der mittlere Gewichtszuwachs in 4 Tagen mit Standardabweichung angegeben. Der Kontrollwert stammt aus der Wachstumskurve für homozygote Gunn-Ratten nach i.v. NaCl-Injektion (s. Abb. 23).

Tab. 26: Gewichtszunahme junger homozygoter Gunn-Ratten mit einer mittleren Serumbilirubinkonzentration von 8,7-10,3 mg/dl (Gr. I) innerhalb von 4 Tagen nach i.v. Injektion verschiedener Röntgenkontrastmittel

	n	Mittl. Gew. (g) bei Inj.	Mittlere Gewichtszunahme (g) in 4 Tagen nach Injektion von:		t / p
			KM	NaCl	
Hexabrix^{R} 10 ml/kg KG i.v.	7	15.72	7,13 ± 3,46	6.38	
Amipaque^{R} 10 ml/kg KG i.v.	9	11.26	5,53 ± 1,0	6.05	t=1.560 p≧ o,20
Solutrast^{R} 10 ml/kg KG i.v.	9	9,63	4,26 ± 0,76	4,8	t=2.130 p≧ o,10
Angiografin^{R} 5 ml/kg KG i.v.	11	12,39	5.03 ± 2,38	6.11	t=1.508 p≧o.20
Hexabrix^{R} 5 ml/kg KG i.v. Tiere 2-3 Tage alt	8	10.54	2,49 ± 0,37	5.75	t=24,92 p < 0,001
Tiere 4-6 Tage alt	8	10.98	6,77 ± 2,57	6.0	
Tiere 7-11 Tage alt	7	16.30	8,99 ± 1,37	6.11	

n = Anzahl der Tiere

Tab. 27: Gewichtszunahme junger homozygoter Gunn-Ratten mit einer mittleren Serumbilirubinkonzentration von 6,5-8,2 mg/dl (Gr. II) innerhalb von 4 Tagen nach i.v. Injektion verschiedener Röntgenkontrastmittel

	n	Mittl. Gew. (g) bei Inj.	Mittlere Gewichtszunahme (g) in 4 Tagen nach Injektion von:		t / p
			KM	NaCl	
Hexabrix^{R} 10 ml/kg KG i.v.	13	11.50	6.18 ± 2.27	6.10	t=0.127 p≧0.95
Amipaque^{R} 10 ml/kg KG i.v.	16	10.60	5.51 ± 1.60	5.80	t=0.725 p≧0.50
Solutrast^{R} 10 ml/kg KG i.v.	10	9.53	4.30 ± 1.20	4.70	t=1.054 p≧0.40
Angiografin^{R} 5 ml/kg KG i.v.	7	10.78	4.93 ± 1.76	5.72	t=1.099 p≧0.40
Hexabrix^{R} 5 ml/kg KG i.v.					
Tiere 2-3 Tage alt	7	9.87	3.83 ± 1.04	4.40	t=1.449 p≧0.20
Tiere 4-6 Tage alt	7	12.40	6.19 ± 2.80	6.11	t=0.075 p≧0.95
Tiere 7-11 Tage alt	7	13.40	4.54 ± 1.97	6.10	t=2.044 p≧0.10

n = Anzahl der Tiere

Dazu wurde für jede Präparate-Gruppe die Gewichtsdifferenz abgelesen, um die NaCl-Tiere mit gleichem mittleren Gewicht innerhalb von 4 Tagen zunehmen. Das Kriterium nominelles Lebensalter war für die Festlegung des Ausgangspunkts auf der Wachstumskurve zur Ermittlung der Kontrollwerte weniger geeignet. Das Trinkverhalten der Gunn-Ratte

und die weitere Entwicklung hängt nämlich, wie schon früher beschrieben (16), in dieser Lebensphase eher vom momentan erreichten Gewicht ab als vom wirklichen Lebensalter. Gunn-Ratten, die mit 3 Tagen schon so schwer waren wie es normalerweise erst nach 5 Tagen zu erwarten ist, nahmen in meinen Versuchen in der Regel auch weiterhin so schnell wie die 5 Tage alten Tiere an Gewicht zu. Bei alleiniger Zugrundelegung des Lebensalters hätten sich für solche Tiere zu niedrige Kontrollwerte ergeben, die fälschlich gute Entwicklung nach KM-Applikation vortäuschen. Die Unterschiede zwischen mittlerem Wachstum nach KM-Gabe und dem Erwartungswert nach Kochsalz wurden zum Teil mit dem t-Test statistisch überprüft. Dazu wurden in den Tabellen Prüfgröße t und Irrtumswahrscheinlichkeit p angegeben. Das Lebensalter der Ratten aus den verschiedenen Präparateserien ist der Tab. 5 zu entnehmen. Hexabrix^{R} 10 ml/kg KG i.v. beeinflußt das durchschnittliche Wachstum der in dieser Serie mindestens 6 Tage alten homozygoten Gunn-Ratten nicht. Amipaque^{R} und Solutrast^{R} in derselben Dosis führen bei 4-6 Tage alten Tieren allenfalls zu leichten Wachstumsabweichungen nach unten (Defizit maximal 0,5 g). Die Unterschiede sind nicht signifikant. Die überdurchschnittliche Gewichtszunahme nach Hexabrix^{R} 10 ml/kg KG i.v. in Gr. I ist auf bessere Laktation zurückzuführen, da einige der im Schnitt 9 Tage alten Tiere ausnahmsweise mit nur 3 anderen bei einer Rattenmutter saßen. In derselben Gruppe sind aber zwei 6 Tage alte normal genährte Gunn-Ratten, die nur um maximal 2,5 g im Beobachtungszeitraum zunehmen. Dagegen werden die 10-11 Tage alten Tiere (dort Zunahme 9 g!) und alle anderen 4-6 Tage alten Ratten durch diese Dosis Hexabrix^{R} überhaupt nicht beeinflußt. Der Vergleich des Wachstums dreier Altersgruppen nach 5 ml/kg KG Hexabrix^{R} i.v. bestätigt diese Tendenz. Die 2-3 Tage alten stark ikterischen Tiere weisen den größten Gewichtsrückstand aller Altersgruppen auf. Der Unterschied zur Kontrollgruppe beträgt -3,24 g ($p < 0,001$). Die weniger ikterischen Tiere dieses Alters sind durch-

schnittlich nur 0,57 g leichter als die NaCl-Tiere. Die 4-6 Tage alten Ratten sind unter gleichen Bedingungen unempfindlich gegen Hexabrix^{R} und zeigen normales Wachstum. Die 7-11 Tage alten Gunn-Ratten reagieren uneinheitlich: In Gr. II war nachweislich schlechte Laktation verantwortlich. Die Wachstumswerte sind in dieser Altersklasse insgesamt schlecht beurteilbar, weil es schwierig ist, für dieses Entwicklungsstadium mit den stärksten individuellen Wachstumsschwankungen (s. Abb. 23) verläßliche Normwerte zu finden. Angiografin^{R} 5 ml/kg KG i.v. beeinflußt auch bei 4-6 Tage alten Tieren das Wachstum. Das Gewichtsdefizit beträgt 0,79-1,08 g. In Gr. I ist der Unterschied wegen der hohen Standardabweichung aber nicht signifikant.

Abschließend ergibt sich folgende Beurteilung: Bei 4-6 Tage alten Gruppen homozygoter Gunn-Ratten besteht nur nach Angiografin^{R} 5 ml/kg KG eine Tendenz zur Wachstumshemmung. Die anderen 3 KM beeinflussen die Gewichtszunahme in dieser Altersgruppe trotz doppelter Dosis kaum.
Die Gruppe der stark ikterischen 2-3 Tage alten Gunn-Ratten dagegen, die schon den stärksten Serumbilirubinabfall nach nur 5 ml/kg KG Hexabrix^{R} i.v. aufwies, wird durch diese KM-Dosis hochsignifikant im Wachstum gehemmt.

E Schwimmtest

Der Grad des Purkinjezellverlusts im Kleinhirn der homozygoten Gunn-Ratte ist ein Kriterium für das Ausmaß der Bilirubinencephalopathie (37, 6). Ebenso gut lassen sich auch durch Beobachtung der daraus resultierenden neurologischen Symptomatik bei den Versuchstieren Rückschlüsse auf Nervenzellschädigungen ziehen. Butcher et al. (18) machten verschiedene neurologische Tests mit homo- und heterozygoten Gunn-Ratten. Unter anderem wurde die Schwimmfähigkeit sowie die Geschwindigkeit und Anzahl der Fehler beim Verlassen eines Wasserbeckens beurteilt. Es

zeigte sich, daß die homozygoten Tiere langsamer schwammen und signifikant mehr Fehler machten als die heterozygote Kontrollgruppe. In der vorliegenden Arbeit wurde ebenfalls ein Schwimmtest durchgeführt, der so angelegt war, daß Bewegungs- und Koordinationsstörungen auffallen mußten. Er fand 6-10 Wochen nach i.v. Kontrastmittelinjektion statt. Die Tiere waren inzwischen ca. 120-160 g schwer. Das geringgradig unterschiedliche Lebensalter und Körpergewicht der Tiere hatte keinen Einfluß auf die Testergebnisse. Die homozygoten Gunn-Ratten aus den Hauptversuchen wurden dazu in die Mitte eines 15 cm hoch mit Leitungswasser (14° C) gefüllten Wasserbeckens (Ø 60 cm) gesetzt. Um aus dem Wasser wieder herauszukommen, mußten die Tiere zunächst schwimmen und dann den Beckenrand überklettern, der 5 cm über der Wasseroberfläche lag.

Das Verhalten der Gunn-Ratten wurde beobachtet und wie folgt mit Punkten bewertet:

5 - schwimmt von der Mitte direkt an den Beckenrand und überklettert diesen sofort.
4 - schwimmt sicher, überklettert den Beckenrand innerhalb von 15-20 Sek..
3 - schwimmt sicher, überklettert den Beckenrand innerhalb von 1 Minute.
2 - schwimmt weniger sicher, überklettert den Beckenrand innerhalb von 2 Minuten.
1 - schwimmt unsicher, überklettert den Beckenrand innerhalb von 4 Min.
0 - schwimmt unsicher, überklettert den Beckenrand innerhalb von 4 Min. nicht.

Die nachuntersuchten Tiere waren zum Zeitpunkt der KM-Injektion ausnahmslos 4-6 Tage alt. Die mittlere Serumbilirubinkonzentration hatte bei Injektion bei allen der hier zusammengestellten Präparategruppen etwa gleich hoch gelegen.

Abb. 24 und Tab. 28 zeigen die mittleren Punktzahlen mit Standardabweichung, die im Schwimmtest von den homozygoten Gunn-Ratten 6-10 Wochen nach i.v. Kochsalz- und KM-Injektion erreicht wurden.

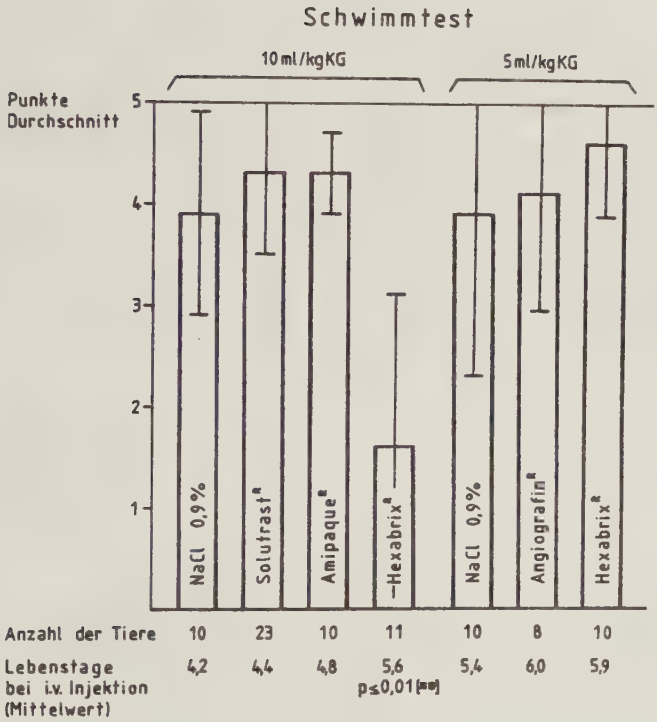

Abb. 24: Durchschnittliche Punktzahl von Gruppen junger homozygoter Gunn-Ratten im neurologischen Schwimmtest 6-10 Wochen nach i.v. NaCl- und Kontrastmittelinjektion

Tab. 28: Ergebnisse des neurologischen Schwimmtests

10 ml/kg KG	n	Punkte	5 ml/kg KG	n	Punkte
NaCl o.9% i.v.	10	3.9 ± 1.0	NaCl 0.9% i.v.	10	3.9±1.6
Solutrast® i.v.	23	4.3 ± o.8	Angiografin® i.v.	8	4.1±1.2
Amipaque® i.v.	10	4.3 ± o.4	Hexabrix® i.v.	10	4.6±o.6
Hexabrix® i.v.	11	1.6 ± 1.5 (++)			

Solutrast^{R} und Amipaque^{R} führten im Vergleich zur Kochsalz-Kontrolle in der Dosis 10 ml/kg KG i.v. zu keiner Beeinträchtigung der motorischen Reaktionen der Gunn-Ratten. Nach Hexabrix^{R} dagegen, Dosis 10 ml/kg KG kommt es zu einer deutlichen neurologischen Verlangsamung der Versuchstiere. Die Ratten erreichen hier mit durchschnittlich 1,6 Punkten weniger als die Hälfte der Bewertung der Kochsalz-Tiergruppe. Der Unterschied ist statistisch stark ($^{++}$) signifikant ($p \leqq 0{,}01$). Die Benotung fällt hier unabhängig von niedrigem oder hohem Serumbilirubin zur Zeit der Injektion für alle Hexabrix^{R}-Tiere gleich schlecht aus.

Nach 5 ml/kg KG i.v. Hexabrix^{R} dagegen verhalten sich die am Tag der Injektion 4-6 Tage alten homozygoten Gunn-Ratten völlig normal. Dasselbe gilt für Angiografin^{R} i.v. in der gleichen Dosierung (s. Abb. 24). Homozygote Gunn-Ratten, die zum Termin der i.v. KM-Injektion jünger als 4 Tage alt waren, scheinen aber empfindlicher zu sein. Das zeigt Abb. 25 und Tab. 29. Dort ist zunächst nochmal das Abschneiden der 4-6 Tage alten Hexabrix^{R}-Tiere beim Schwimmtest dargestellt, das etwa gleichgut ist wie das der zugehörigen NaCl-Kontrollgruppe. Im Vergleich dazu liegt eine Gruppe homozygoter Gunn-Ratten, die zum Zeitpunkt der i.v. Injektion im Mittel nur 2,4 Tage alt war, mit durchschnittlich 2,7 Punkten im Schwimmtest deutlich schlechter. Der Unterschied zur Kontrolle ist aber noch nicht signifikant. Treffen junges Lebensalter und hohes Serumbilirubin als Risikofaktoren für einen Kernikterus zusammen, so werden offenbar durch die Dosis 5 ml/kg KG Hexabrix^{R} durch Bilirubinverdrängung neurologische Schäden gesetzt: 8 homozygote Gunn-Ratten mit dem relativ hohen Anfangsserumbilirubin von 9 mg/dl, bei i.v. Injektion von 5 ml/kg KG Hexabrix^{R} 3 Tage alt, erreichen nur einen Durchschnitt von 1,8 Punkten im Schwimmtest. Das Abschneiden ist hier mit $p \leqq 0{,}02$ signifikant ($^{+}$) schlechter als das der Kontrollgruppe. Es handelt sich bei diesen acht Tieren

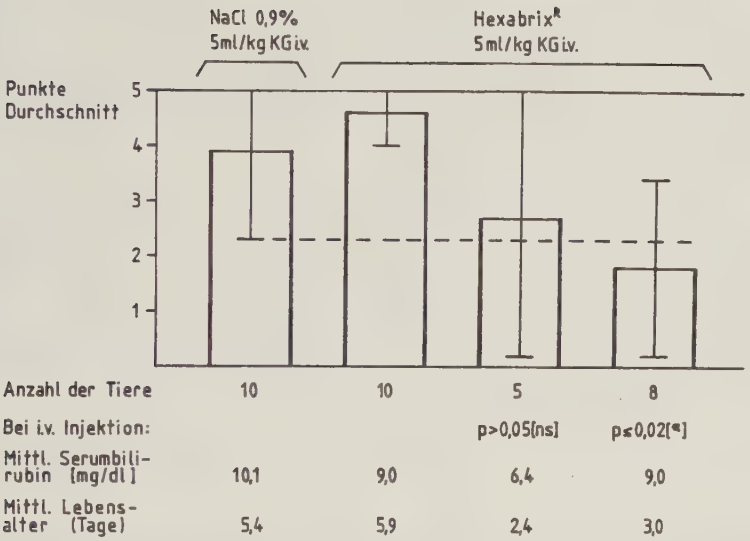

Abb. 25: Einfluß von Grad des Ikterus und des Lebensalters der Gunn-Ratten auf die durchschnittliche Punktzahl im Schwimmtest 6-10 Wochen nach i.v. Injektion von Hexabrix® 5 ml/kg KG

Tab. 29: Ergebnisse des Schwimmtests 6-10 Wochen nach Gabe von Hexabrix® 5 ml/kg KG i.v. bei jungen Gunn-Ratten mit verschieden hohem Serumbilirubin und unterschiedlichem Lebensalter zur Zeit der Injektion.

Präparat	Dosis	n	Bei Injektion		Punkte
			Bili-rubin	Lebens-tage	
NaCl 0,9%	5 ml/kg KG i.v.	10	10,1	5.4	3.9 ± 1.6
Hexabrix®	5 ml/kg KG i.v.	10	9,0	5.9	4.6 ± 0.6
"	"	5	6,4	2.4	2.7 ± 2.5 (ns)
"	"	8	9,0	3.0	1.8 ± 1.6 (+)

um die Gruppe, die schon bei den Bilirubinmessungen für den Hexabrix^{R}-Altersvergleich mit dem stärksten mittleren SBK-Abfall aller Altersgruppen nach 5 ml/kg KG KM-Injektion auffiel. Bei denselben Tieren war dann später ein starkes Zurückbleiben im Wachstum zu verzeichnen, das hochsignifikant unter dem Kontrollwert lag.

Zusammenfassend gilt für den Schwimmtest folgendes: Durch i.v. Gabe von Amipaque^{R} und Solutrast^{R} je 10 ml/kg KG sowie Angiografin^{R} und Hexabrix^{R} je 5 ml/kg KG an 4-6 Tage alte homozygote Gunn-Ratten treten 6-10 Wochen später bei denselben Tiergruppen im Schwimmtest in keinem Fall stärkere Zeichen einer Bilirubinencephalopathie auf als bei der NaCl-Kontrollgruppe.

Die genannten KM-Dosen sind zugleich die, die bei i.v. Injektion von jungen homozygoten Gunn-Ratten noch ohne Nebenwirkungen vertragen werden.
Hexabrix^{R} in höherer Dosis von 10 ml/kg KG i.v. ruft allerdings unter gleichen Bedingungen bei den Gunn-Ratten im Schwimmtest deutliche Störungen der Motorik und Koordination verglichen mit der Kontrollgruppe hervor. In gleichem Maße treten diese Bewegungsstörungen auch 6 Wochen nach nur 5 ml/kg KG Hexabrix^{R} i.v. auf, sofern die Versuchstiere zur Zeit der KM-Injektion sehr jung und stark ikterisch waren.

F Röntgenbilder

Die Qualität und Geschwindigkeit der Kontrastgebung durch die 4 Präparate wurde nach s.c. und i.v. Injektion der einzelnen Kontrastmittel röntgenologisch untersucht. Dazu wurden aus jeder Versuchsreihe eine, meistens aber mehrere Gunn-Ratten innerhalb der ersten Stunde p.inj. geröntgt. Nach s.c. Injektion von Angiografin^{R} und Amipaque^{R} wurden der Vollständigkeit halber ebenfalls Röntgenaufnahmen angefertigt, obwohl s.c. Versuche mit diesen Präparaten

nicht Teil der vorliegenden Arbeit sind. Als Kriterien für die Beurteilung der Röntgenbilder galten die Kontraststärke möglicher KM-Extravasate am Injektionsort sowie die Güte der Kontrastdarstellung von Nierenbecken und Harnblase 3-7, 20-30 und 40-50 Minuten nach der Injektion. Die Bewertung fand mit einem fünfstufigen Punkte-Score statt, der unter der Tab. 30 erläutert wird. Die Punktewerte, die in Tab. 30 erscheinen, sind Durchschnittswerte, wenn mehrere Ratten nach Gabe derselben KM-Dosis geröntgt wurden. Bei der Auswertung der Röntgenaufnahmen war freundlicherweise Prof. Kaufmann, Leiter der radiologischen Abteilung des KAVH Berlin, behilflich.

Zunächst sollen die Röntgenergebnisse nach i.v. KM-Injektion an Hand der Tabelle 30 und einzelner repräsentativer Röntgenbilder besprochen werden.

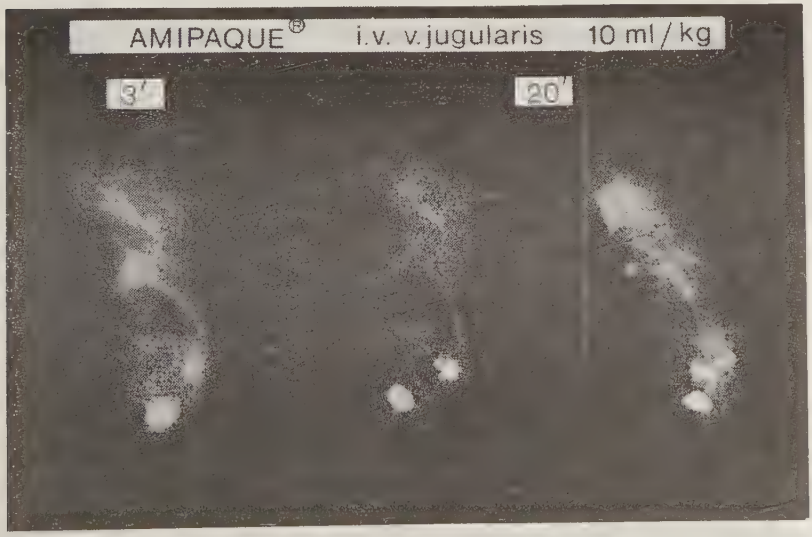

Abb. 26: Röntgendarstellung eines Rattenbabies 3 und 20 Minuten nach i.v. Injektion von Amipaque^{R} (Beispiel)

Abb. 27: Röntgendarstellung eines Rattenbabies $_{R}^{3}$ und 20 Minuten nach i.v. Injektion von Solutrast® (Beispiel)

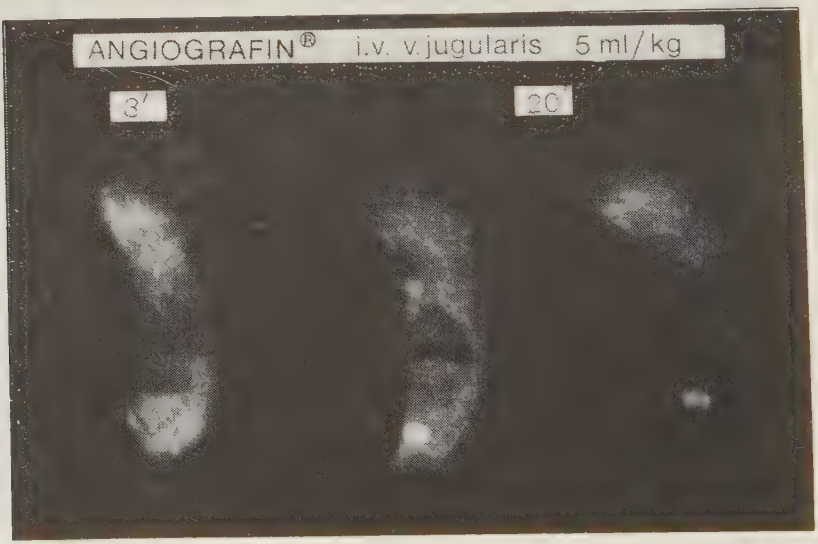

Abb. 28: Röntgendarstellung eines Rattenbabies 3_{R} und 20 Minuten nach i.v. Injektion von Angiografin® (Beisp.)

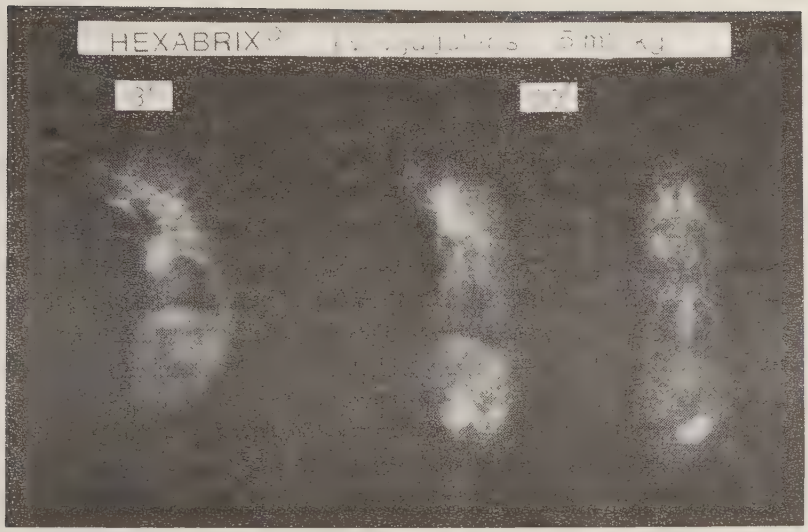

Abb. 29: Röntgendarstellung eines Rattenbabies 3 und 20 Minuten nach i.v. Injektion von Hexabrix^{R} (Beispiel)

Für die Beurteilung nach i.v. KM-Injektion ist vor allem der Zeitraum 20-30 Minuten p.inj. interessant, weil dann die Kontrastgebung am stärksten ist. Die beste Darstellung der Harnwege gelingt zu dieser Zeit mit Amipaque^{R} 10 ml/kg KG i.v.: Nierenbecken, Harnleiter und Blase sind sehr gut sichtbar (s. Abb. 26). Gut bis sehr gut sichtbar ist auch die Kontrastierung des Nierenbeckens durch die gleiche Dosis Solutrast^{R}, weniger gut (+-++) die der Blase (s. Abb. 27). Hexabrix^{R} 10 ml/kg KG i.v. bringt ein gutes Bild vom Nierenbecken und eine optimale (+++) Darstellung der Harnblase, obwohl ein Teil der KM-Injektion hier versehentlich paravenös erfolgte, so daß ein röntgendichtes Extravasat am Injektionsort zurückblieb (s. Abb. 2, S. 19). Nach 5 ml/kg KG i.v. Angiografin^{R} dagegen ist das Nierenbecken überhaupt nicht sichtbar, die Blase wird allerdings gut abgebildet (s. Abb. 28).

Hexabrix^{R} in der geringen Dosierung von 5 ml/kg KG wirkt erwartungsgemäß weniger kontrastgebend (s. Abb. 29). Die Abbildungsqualität entspricht etwa der von Angiografin^{R} in Abb. 28. Trotz der geringen Anzahl der geröntgen Tiere soll der Versuch einer optischen Reihung der 4 Präparate nach der Kontrastqualität unternommen werden:
Bei der Darstellung des Nierenbeckens mit 10 ml/kg KG i.v. ist eine gewisse Überlegenheit von Amipaque^{R} gegenüber Solutrast^{R} und von diesem gegenüber Hexabrix^{R} zu erkennen. Angiografin^{R} und Hexabrix^{R} fallen demgegenüber bei geringerer Dosis von 5 ml/kg KG i.v. bezüglich der Kontraststärke im Nierenbecken stark ab.

Rückschlüsse auf die Ausscheidungsgeschwindigkeit und Pharmakokinetik der KM ermöglicht der Blick auf die Sofortröntgenaufnahmen unmittelbar nach i.v. Injektion. Die Nierenbecken werden danach am schnellsten von Hexabrix^{R} und Solutrast^{R} erreicht, die dort schon zwischen 3 und 7 Minuten p.inj. sichtbare Frühkonzentration zeigen. Amipaque^{R} ist dazu ebenfalls in der Lage, obwohl die Anflutung etwas langsamer erscheint, denn der Kontrast im Nierenbecken ist flauer. Nach Angiografin^{R} 5 ml/kg KG i.v. ist der Frühkontrast gleich Null, was wahrscheinlich an der geringeren Dosis liegt. Auch Hexabrix^{R} i.v. mit gut sichtbarer Frühkonzentration (10 ml/kg KG) versagt diesbezüglich bei Halbierung der Dosis. Die Schlußfolgerung, daß i.v. injiziertes Angiografin^{R} langsamer als die anderen 3 KM ausgeschieden wird, ist deshalb nach den Röntgenbildern nicht möglich. Nach dem Kontrastmaximum 20-30 min.p.inj. hat sich bei Amipaque^{R} die Intensität der Kontrastgebung 30-40 Minuten nach i.v. - Bolus-Injektion bereits wieder verringert. Die anderen gleichdosierten KM Hexabrix^{R} und Solutrast^{R} kontrastieren 20-30 min.p.inj. das Nierenbecken ähnlich stark wie Amipaque^{R}. Daher ist anzunehmen, daß bei der Gunn-Ratte von diesen 3 KM ein großer Teil der i.v. Dosis innerhalb der ersten halben Stunde ausgeschieden wird. Für Hexabrix^{R} und Solutrast^{R} ist das mit Sicherheit

anzunehmen, denn der Frühkontrast war hier eher besser als bei Amipaque^{R}. Da nach Literaturangaben (s. unten und Abschn. Präparate) Amipaque^{R} und Angiografin^{R} von den getesteten KM dieser Studie am langsamsten eliminiert werden, muß das für alle 4 Substanzen, auch für Angiografin^{R}, gelten.

Das Maximum der Kontrastmittelwirkung auf den Bilirubin-Albumin-Komplex nach i.v. Gabe muß nach den Röntgenbildern innerhalb der ersten 30 min.p.inj. erwartet werden. Dies gilt für alle vier Präparate. Es ist damit nach der beobachteten KM-Pharmakokinetik unwahrscheinlich, daß die Interferenz Bilirubin - KM zwischen 30 min. und 3 h nach i.v. Injektion größer ist als in der ersten halben Stunde p.inj. Die möglichen KM-Effekte auf die Serumbilirubinkonzentration können also durch die vorgegebenen Bilirubin-Meßtermine 15 und 30 min.p.inj. gut erfaßt werden.

Die 4 Kontrastmittel wurden in gleicher Dosis auch s.c. gespritzt. Anschließend wurde wiederum geröntgt und gemäß der Kontrastqualität nach dem gleichen Schema bewertet (s. Tab. 30, unten). Zwei Punkte zur s.c. Applikationsform der KM sind wesentlich:

Erstens: Alle Substanzen müssen nach s.c. Injektion zunächst aus dem s.c. Kompartiment in den intravasalen Raum resorbiert werden, ehe sie wirksam werden können. Grundsätzlich ist daher bei s.c. KM-Injektion mit zeitlichen Verzögerungen im Ablauf der nach i.v. Gabe beobachteten Effekte zu rechnen.

Zweitens: Präparatevergleiche können nach s.c. Gabe anders ausfallen als bei i.v. Gabe, wenn durch unterschiedliche Resorptionsgeschwindigkeit aus dem s.c. Depot die Verteilung der Substanzen im Körper verschieden schnell abläuft.

Nicht nur die Röntgenergebnisse sondern prinzipiell alle Resultate und Schlußfolgerungen der s.c. Versuche müßten in diesem Fall überprüft werden. Durch Röntgen-Kontrolle der Kontraststärke des s.c. Kontrastmitteldepots an der Einstichstelle konnte auf unterschiedlich schnelles Resorptionsverhalten der KM geschlossen werden: 3-7 Minuten p.inj.

Tab. 30: Darstellung von Injektionsort, Nierenbecken und Harnblase im Röntgenbild nach i.v. und s.c. Injektion der Kontrastmittel an junge Gunn-Ratten

	Injektionsort			Niere			Blase		
Kontrastmittel in ml/kg KG	3-7 min.	20-30 min.	40-50 min.	3-7 min.	20-30 min.	40-50 min.	3-7 min.	20-30 min.	40-50 min.
Hexabrix^{R} 10 i.v. n=2	(+)	0		+	++		0	+++	
Solutrast^{R} 10 i.v. n=4	0	0		+	+++++		+	+++	
Amipaque^{R} 10 i.v. n=4	0	0		(+)	+++	++	0-(+)	+++	++
Angiografin^{R} 5 i.v. n=2	0	0		0	0		0	++	
Hexabrix^{R} 5 i.v. n=1	0	0		0	(+)		0	++	
Hexabrix^{R} 10 s.c. n=2	+++		++	0		(+)	0		+++
Solutrast^{R} 10 s.c. n=3	+++	++	+	0	0	(+)	0	0	+++
Amipaque^{R} 10 s.c. n=1	+++		+	0		(+)	0		+++
Angiografin^{R} 10 s.c. n=7	+++	+++	(+)	0	0	+++	0	0	++
Angiografin^{R} 5 s.c. n=1	+++		0-(+)	0		0	0	0	++

0 keine Darstellung
(+) schwach sichtbar
\+ sichtbar
++ gut dargestellt
+++ sehr gut dargestellt

n = Anzahl der geröntgen Tiere mit derselben KM-Dosis

(s. Tab. 30) ist das subcutane Kontrastmitteldepot bei allen Tieren sehr gut sichtbar (+++). Es stellt sich im Röntgenbild je nach Strahlengang entweder frontal als runder Kontrastmittelfleck oder seitlich gesehen als sichelförmige Verschattung im Unterhautgewebe dar.
40-50 Minuten p.inj. ist das KM-Extravasat von Hexabrix^{R} noch am deutlichsten von allen zu sehen (++), während die ursprünglich gleichstark schattengebenden KM-Depots von Solutrast^{R} und Amipaque^{R} schon stärker abgeblaßt sind.

Der Kontrastmittelfleck von Angiografin^{R}, Dosis 10 ml/kg KG s.c., ist gerade noch zu erkennen (+), das halb so große Angiografin^{R}-Depot fast schon verschwunden (0 - (+)). Es ist festzuhalten, daß 40-50 min.p.inj. bei keinem der Präparate die injizierte Dosis vollständig aus dem s.c. Depot resorbiert ist, während nach i.v. Injektion die Gesamtdosis sofort im Blut erscheint.

Das hier beschriebene Gefälle an Kontraststärke des s.c. KM-Depots an der Einstichstelle darf bei gleicher KM-Dosis gleichgesetzt werden mit zunehmender Resorptionsgeschwindigkeit der entsprechenden Präparate.

Das bedeutet, daß Hexabrix^{R} von den 4 Röntgenkontrastmitteln am langsamsten und Angiografin^{R} am schnellsten aus dem subcutanen Raum in das Blut resorbiert wird. Nach s.c. Gabe kommt es bei allen KM zu einer protrahiert verlaufenden Kontrastdarstellung von Nierenbecken und Blase im Vergleich zur i.v. KM-Injektion: 20-30 min.p.inj., das ist der Zeitpunkt der besten Kontrastgebung nach i.v. Injektion, zeigt sich nach s.c. Applikation der KM in keinem Fall eine Kontrastierung der Harnwege. Erst 40-50 min.p.inj. sind Nierenbecken und Blase mehr oder weniger deutlich zu sehen. Damit dürfte die KM-Wirkung auf die Bilirubin-Albumin-Bindung nach s.c. Injektion länger andauern als nach i.v. Gabe, weil vom Injektionsort kontinuierlich KM in das Blut einströmt und mehr Zeit bis zur vollständigen Ausscheidung der Substanzen vergeht.

Das Nierenbecken wird durch alle KM außer durch Angiografin^{R} nach s.c. Injektion schlechter dargestellt als nach intravenöser Gabe der gleichen KM-Dosis (s.Tab.30). Das beweist, daß die für einen optimalen Kontrast im Nierenbecken notwendigen KM-Konzentrationen im Blut der Versuchstiere nach s.c. Gabe nicht erreicht werden. Die maximale KM-Wirkung auf den Bilirubin-Albumin-Komplex nach s.c. Gabe muß deshalb geringer sein als nach i.v. Injektion. Wegen der flauen Nierenbecken-Darstellung bei allen Präparaten nach s.c. Gabe erübrigt sich eine optische Reihung.

Auffällig ist, daß allein Angiografin[R] 10 ml/kg KG s.c. trotzdem zu einer sichtbaren bis gut erkennbaren Nierenbeckendarstellung (+-++) führt. Hier scheint es zu einer stärkeren Kumulation der aus dem s.c. Depot pro Zeiteinheit resorbierten KM-Menge im Plasma gekommen zu sein, die für eine Nierenbeckenkontrastierung ausreicht. Neben der nachgewiesenen schnelleren Resorptionsgeschwindigkeit (s. oben) kann dafür zusätzlich eine im Vergleich zu anderen KM längere Plasma-Halbwertzeit die Ursache sein.

Die Kontrastintensität nach Hexabrix[R] s.c. ist trotz der vergleichsweise geringen Resorption nur wenig beeinträchtigt. Die Kontrastierung der Blase ist nach 40-50 min. nur etwas schwächer als 20-30 min. nach i.v. Injektion. Die Abbildungsqualität für die Harnblase ist sonst bei allen anderen KM durchweg nach s.c. Injektion genauso gut wie nach i.v. Injektion. Für eine gute Darstellung der Blase sind hohe KM-Plasmaspiegel wahrscheinlich auch nicht so wichtig, wenn genügend lange abgewartet wird. Die Röntgenbilder zeigen, daß sich 40-50 Minuten nach der s.c. Injektion offenbar genug KM-haltiger Urin in der Harnblase der Rattenbabies angesammelt hat. Der Blasenurin weist zwar sicherlich eine geringere KM-Konzentration auf, reicht aber nach der längeren Zeit in der Menge offenbar aus, um denselben Kontrast zu geben, wie er nach i.v. Injektion in kürzerer Zeit erzielt wird.

Zum Punkt Kontrastqualität folgende Zusammenfassung: Für die deutliche Kontrastdarstellung der gesamten Harnwege ohne gleichzeitige Nebenwirkungen sind unter den Versuchsbedingungen dieser Studie nur 2 der 4 Kontrastmittel mehr oder weniger gut geeignet.

Amipaque[R] (Dosis 10 ml/kg KG i.v.) liefert die besten Kontraste von Nierenbecken und Harnblase der jungen Gunn-Ratte und ist sehr gut verträglich. Das gleiche gilt für Solutrast[R], das allerdings nur das Nierenbecken gut bis sehr gut darstellt. Für die Kontrastdarstellung der Blase ist dieses Präparat weniger geeignet. Die beiden ionischen

Kontrastmittel Hexabrix[R] und Angiografin[R] führen in der noch verträglichen Dosis von 5 ml/kg KG zu keiner befriedigenden Darstellung der Harnwege. Bei doppelter Dosis allerdings erreicht auch Hexabrix[R] gute Abbildungsqualität. Es muß dann aber schon unmittelbar bei der i.v. Injektion mit medikamentenbedingten Nebenwirkungen gerechnet werden.

Zum Punkt Pharmakokinetik kann abschließend festgestellt werden, daß die KM-Ausscheidung nach i.v. Gabe bei der jungen Gunn-Ratte kaum langsamer verläuft als beim Menschen. In beiden Fällen zeigt sich das Kontrastmaximum in den Harnwegen innerhalb der ersten halben Stunde p.inj. (50). Von den Herstellern (100, 101, 102, 103) sind Ausscheidungsraten von ca. 50 % der i.v. Gesamtdosis in 30 min. beschrieben für Hexabrix[R] (Tier, Mensch), 50 % in 30 bzw. 45 bzw. 115 min. für Solutrast[R] (Kaninchen, Hund, Mensch), 20 % in 30 min., 50 % in 3 h, 85 % in 24 h für Angiografin[R] und 70 % in 24 h für Amipaque[R] (Mensch). Hexabrix[R] und Solutrast[R] werden nach diesen Angaben am schnellsten ausgeschieden, Angiografin[R] und Amipaque[R] nur etwa halb so schnell mit einer biologischen HWZ von ca. 3-4 Stunden. Obwohl die Vergleichbarkeit dieser Werte sicherlich eingeschränkt ist, korrelieren sie gut mit den Röntgenergebnissen bei der Gunn-Ratte. Dort gab es deutliche Hinweise für eine schnellere Elimination von Solutrast[R] und Hexabrix[R] im Vergleich zu den anderen 2 KM.

Die maximale biologische HWZ der Präparate dürfte auch in meinen Versuchen etwa 3 h betragen haben. Die Plasma-HWZ der verwendeten KM ist dann bei der Gunn-Ratte noch wesentlich niedriger anzusetzen, weil sich die Kontrastmittel im ganzen Körper, d.h. auch im extravasalen Raum verteilen (79). Nach s.c. Applikation ist die KM-Ausscheidung und damit die Plasma-HWZ der Präparate wegen der primär notwendigen Resorption aus dem s.c. Depot verlängert. Verglichen mit den Sulfonamiden aber wirken die KM unabhängig von der Injektionsart alle wesentlich kürzer auf den Bilirubin-Albumin-Komplex. Sulfadimethoxin, das für seine langan-

dauernde starke Bilirubinverdrängung bekannt ist, hat eine Plasma-HWZ von 26 h (98)!

IV. Diskussion

In dieser Arbeit werden die Studien über den Einfluß von Medikamenten auf die Bilirubin-Albumin-Bindung fortgesetzt. Wegweisend waren u.a. Arbeiten von Brodersen, der mit Hilfe der Peroxidase-Technik bei 150 Präparaten die Fähigkeit zur Bilirubinverdrängung überprüfte (15). Darunter waren auch 2 Röntgenkontrastmittel, die von mir verwendet wurden. Brodersen bestimmte die Bindungskonstante K_D der jeweiligen Substanz für die Kopplung an der Bilirubinbindungsstelle hoher Affinität am Albumin. Die Werte von K_D reichen von ungefähr $10^1 M^{-1}$ für die harmlosen Präparate bis $10^5 M^{-1}$ bei den gefährlichsten Stoffen (13). Verglichen damit hat Bilirubin selbst mit einer Bindungskonstante von $10^8 M^{-1}$ für diese Bindungsstelle immer noch die weitaus größere Affinität zum Albumin (12). Daher ist kein Medikament in der Lage, Bilirubin durch eine höhere Bindungskonstante vom Albumin zu verdrängen. Die von Brodersen als gefährlich klassifizierten Pharmaka können jedoch in größerem Umfang in das Dissoziations-Bindungsgleichgewicht des Bilirubin-Albumin-Komplexes eingreifen. Durch ihre starke Affinität auch zu den hochaffinen Albuminrezeptoren für Bilirubin besetzen sie einen Teil dieser Bindungsstellen. Sie sollen in ersten Linie die Wiederbindung des freien Bilirubins behindern, das nach dem Massenwirkungsgesetz (MWG) ständig in geringen Mengen durch Abdissoziation vom Albumin entsteht (13). Das Bindungsgleichgewicht zwischen dem ungebundenen Bilirubin und den verbleibenden Bindungsstellen verschiebt sich entsprechend den Regeln des MWG auf ein neues Niveau (35). Die Gleichgewichtskonzentration an ungebundenem Bilirubin im Serum ist dann erhöht (13), obwohl ein Teil des freigesetzten Bilirubins an Albuminbindungsstellen niedrigerer Affinität wiedergebunden werden kann (97). Das freie Bilirubin im Serum ist diffusibel und steht in vivo im Gleichgewicht mit extrazellulären Rezeptoren (67). Bei Konzentrationserhöhung im Plasma durch

Verdrängung aus der Plasmaeiweißbindung wandert es rasch ins Gewebe ab (u.a. ins Zentralnervensystem), was zum Absinken der Konzentration vom Gesamtbilirubin im Serum führt (98, 40). An den weniger bilirubinaffinen Albuminbindungsorten ist die Konkurrenz mit dem Pharmakon nach dem MWG noch leichter möglich (73). Odell und Mitarb. nehmen sogar im Gegensatz zu Brodersen an, daß Bilirubin durch organische Anionen nur von diesen Rezeptoren mit schwächerer Bilirubin-Bindung direkt verdrängt werden kann (73). Das einfache Modell der kompetitiven Bindung reicht zur Abschätzung und Erklärung des Medikamenteneffekts in vivo aus, obwohl die Wechselwirkungen zwischen Medikamenten, Albumin und Bilirubin komplizierter sein können, als hier dargestellt (13). Nach Brodersen (13) ergibt sich die maximale Verdrängung aus der Gleichung:

$$\delta = K_D \cdot d + 1$$

K_D ist die präparatespezifische Albuminbindungskonstante und d die freie Plasmakonzentration des Medikaments. δ ist der sogenannte "Maximal Displacement Factor", um den sich die Bilirubinkonzentration im Gehirn nach Medikamentengabe erhöht. Aus der Formel folgt, daß ein Pharmakon trotz niedriger Bindungskonstante in hoher Plasmakonzentration zur Bilirubinencephalopathie führen kann. Zusätzlich spielt die Affinität extravasaler Rezeptoren für Bilirubin eine Rolle (67, 13). Die Röntgenkontrastmittel zur i.v. Cholangiografie und die Sulfonamide erwiesen sich als die stärksten Bilirubinverdränger von den 150 untersuchten Pharmaka (13, 15). Diese Befunde konnten bei der jungen Gunn-Ratte auch in vivo nachgewiesen werden (30, 40). Yeary und Davis haben verschiedene Methoden zur quantitativen Bestimmung der medikamenteninduzierten Bilirubinverdrängung miteinander verglichen. Sie kamen wie bereits erwähnt zu dem Schluß, daß dem Gunn-Ratten-Modell bei der Überprüfung neuer Präparate für den perinatalen Indikationsbereich

große Aussagekraft zukommt. Die Resultate des von ihnen favorisierten in vitro-Verfahrens der Sephadex-Gel-Filtration zur Bestimmung des ungebundenen Bilirubins nach Medikamentengabe stimmten gut überein mit dem Absinken der Serumbilirubinkonzentration (SBK) ikterischer Gunn-Ratten, die nach Injektion der verschiedenen Substanzen beobachtet wurde (98). Auch unter den Bedingungen der vorliegenden Arbeit kann der gemessene SBK-Abfall unter das Niveau der NaCl-Kontrolle zweifelsfrei als gültiges Hauptkriterium für das Ausmaß der durch Kontrastmittel (KM) induzierten Bilirubinverdrängung vom Albumin nach i.v. Injektion angesehen werden: Durch radiologische und optische Kontrolle der Injektionstechnik war die vollständige intravasale Applikation der KM-Dosen gesichert. Eine Interferenz der KM mit Bilirubin bei der photometrischen Bilirubinbestimmungsmethode wurde in Vorversuchen ausgeschlossen. Die ausgewerteten Serumproben waren ausnahmslos hämolysefrei. Durch Bestimmung des Hämatokrits (Hkt) wurde die Verdünnungssituation im Serum erfaßt. Dabei zeigte sich, daß die Serumverdünnung durch die KM in keiner Serumprobe größer war als die durch gleichvolumige NaCl-Injektion. Der osmotische Verdünnungseffekt im Serum durch die verabreichten KM-Dosen ist also auch bei den Gunn-Ratten schon 15 Minuten p.inj. vorbei. Der Fall, daß falsch niedrige Serumbilirubinwerte durch anhaltende osmotische KM-Effekte gemessen werden und damit ein nicht vorhandener Verdrängungseffekt vorgespiegelt wird, ist damit für alle Versuchsreihen in dieser Arbeit ausgeschlossen. Ein Präparat, nämlich Hexabrix^{R}, führte aber umgekehrt zu stärkerer Hämokonzentration bei den Versuchstieren, was bei der Bewertung der Bilirubinmeßergebnisse berücksichtigt wird. Bei Begrenzung der KM-Dosis auf 20-30 % der LD_{50} (i.v.) ähnlich wie bei Yeary und Davis (98) sind Einflüsse auf die Versuchsergebnisse durch toxische Präparatewirkungen unwahrscheinlich. Daher hat auch die Bestimmung der akuten Toxizität (LD_{50}) nach Behrens und Kärber (9) im Rahmen dieser Arbeit ihre Berechtigung. Es

handelt sich dabei um die KM-Dosis, die 50 % der Versuchstiere tötet. Der Vergleich der ermittelten LD_{50}-Werte mit den Angaben aus der Literatur ist problematisch, weil die Werte je nach Tierspezies, Präparatekonzentration, Versuchstieralter und Applikationsform anders ausfallen. Selbst die Geschwindigkeit der i.v. KM-Injektion spielt eine Rolle (17), so daß sogar unter sonst gleichen Bedingungen die LD_{50} einer Zubereitung von Labor zu Labor stark verschieden sein kann (76). Die LD_{50}-Werte in dieser Studie sind jedoch miteinander vergleichbar, weil die Versuchsbedingungen für alle KM identisch waren. Als Nebenkriterien für die Erfassung der Bilirubinverdrängung vom Albumin durch KM gelten die Gewichtsentwicklung der Tiere und das Abschneiden im neurologischen Schwimmtest. Diese Parameter müssen den Grad einer Bilirubinencephalopathie anzeigen, denn die Stärke des Kernikterus homozygoter Gunn-Ratten korreliert bekanntlich mit dem Ausmaß des Wachstumsrückstands und der Ausprägung von neurologischen Symptomen wie Ataxie und Lähmungen (40, 36, 41). Die Röntgenbilder ermöglichen Rückschlüsse auf die Pharmakokinetik der KM bei der jungen Gunn-Ratte nach s.c. und i.v. Applikation. Sie bringen damit zusätzliche Information über die Intensität und Dauer der KM-Wirkung auf die Bilirubin-Albumin-Bindung. Außerdem wurde die Kontrastqualität durch die verschiedenen KM bewertet. Die einzelnen Präparate sollen nun nacheinander gemäß den genannten Untersuchungskriterien besprochen werden. Maßgebend für einen Präparatevergleich sind nur die Ergebnisse nach den nebenwirkungsfreien KM-Dosen bei 4-6 Tage alten homozygoten Gunn-Ratten.

Amipaque^{R} erweist sich bei den homozygoten Gunn-Ratten nach i.v. Gabe von 10 ml/kg KG als sehr gut verträglich, was bereits nach den Ergebnissen der s.c. Tests (30) zu erwarten war. Die LD_{50} (i.v.), die im Versuch wegen sehr geringer Toxizität nicht bestimmbar war, wurde anhand der vorliegenden Meßwerte auf etwa 35-40 ml/kg KG geschätzt, was den Herstellerangaben für erwachsene Ratten (101) ent-

spricht. Rattenbabies vertragen damit anscheinend Amipaque^{R} i.v. genauso gut wie erwachsene Ratten. Amipaque^{R} 10 ml/kg KG i.v. scheint in geringem Ausmaß Bilirubin aus der Albuminbindung zu verdrängen. Diese Dosis senkte das Serumbilirubin bezogen auf den Ausgangswert im Serum signifikant um ca. 10 % stärker als die gleiche Dosis physiologische Kochsalzlösung (NaCl) i.v.. In den s.c. Tests von Ehnert (30) ließ sich dagegen selbst nach 20 ml/kg KG Amipaque^{R} keine Veränderung der SBK feststellen. Nach den bekannten pharmakologischen Daten war mit einer Bilirubinverdrängung auch nicht zu rechnen. Mit einer Albumin-Bindungskonstante von $2 \times 10^{2}\ M^{-1}$ (15) zählt Amipaque^{R} zu den harmlosen Substanzen. Die Eiweißbindung ist fast gleich Null (77, 15). Es besteht hier die Möglichkeit, daß Amipaque^{R}, obwohl eigentlich ohne Bilirubininterferenz, durch hohe Plasmakonzentrationen zum leichten Verdränger wird. Dafür sprechen mehrere Indizien: Die Eigenverdünnung im Plasma durch osmotischen Wassereinstrom in vivo muß bei diesem Präparat mit der niedrigsten Osmolalität (500 mOsmol/kg) am geringsten sein. Auch die normalen Hkt-Werte, die hier nachgewiesen wurden, schließen deshalb erhöhte Amipaque^{R}-Plasmakonzentrationen nicht aus. Die Ausscheidung über die Nieren erscheint im Röntgenvergleich bei Amipaque^{R} in der Frühphase gegenüber den anderen gleichdosierten Präparaten etwas verlangsamt, so daß zur gleichen Zeit entsprechend höhere KM-Plasmakonzentrationen auf den Bilirubin-Albumin-Komplex wirken könnten. Die anfängliche Eliminationsverzögerung ist schon früher im Tierversuch beobachtet worden (33): In der ersten halben Stunde p.inj. erschien weniger Amipaque^{R} im Urin als Metrizoat, dessen Pharmakokinetik der des Angiografin^{R} entspricht. Angiografin^{R} wird beim Menschen langsamer eliminiert als Hexabrix^{R} und Solutrast^{R} (s. II. C). Der Indikationsbereich, den der Hersteller für dieses Präparat angibt, stellt ein zusätzliches Indiz für diese Theorie dar: Amipaque^{R} wird als einziges der vier untersuchten KM speziell zur Uro-

grafie von Kindern und Neugeborenen empfohlen, wo neben guter Verträglichkeit auch hohe KM-Plasmakonzentrationen wegen der noch eingeschränkten glomerulären Filtrationsrate (GFR) notwendig sind (19). Gegen eine kritische Bilirubinverdrängung durch Amipaque^{R} spricht aber die fast normale 4 - Tages - Gewichtszunahme und das Ausbleiben von neurologischen Symptomen im Schwimmtest. Im Röntgenvergleich der 4 Präparate erscheint die Kontrastqualität bei der jungen Gunn-Ratte durch Amipaque^{R} am besten, so daß die Spezialindikation dieses Diagnostikums zur Neugeborenenurografie hier bestätigt werden kann.

Von Solutrast^{R}, mit 10 ml/kg KG s.c. und i.v. im Hauptversuch gut verträglich, waren letale Dosen genau wie bei Amipaque^{R} in den Vorversuchen volumenmäßig nicht i.v. injizierbar. Für die LD_{50} (i.v.) wurde deshalb ebenfalls ein Wert von etwa 35-40 ml/kg KG i.v. angenommen, der identisch mit den Angaben des Herstellers (100) ist. Als LD_{50} (i.v.) gelten dort 46,5 ml/kg KG für erwachsene Ratten und 38 ml/kg KG für Rattenbabies, so daß auch bei diesem nichtionischen KM das Alter für die Verträglichkeit keine Rolle spielt. Wegen der minimalen Eiweißbindung (100) stand Solutrast^{R} nicht im Verdacht, Bilirubin vom Albumin verdrängen zu können. In den Hauptversuchen fand sich dafür dann auch kein Hinweis, denn die SBK-Veränderungen sind nur minimal größer als der Kochsalzeffekt. Zwar zeigt sich in einer Tiergruppe 30 min.p.inj. eine leichte Hämokonzentration (Hkt-Anstieg), jedoch erhöht sich der gemessene SBK-Abfall dadurch rein rechnerisch (auf normalen Hkt bezogen) nur um 6 % des Anfangswertes. Eine Interferenz von Solutrast^{R} mit Bilirubin an den Albuminbindungsstellen ist damit höchst unwahrscheinlich. Für diese Annahme sprechen auch Normalwerte für die Nebenkriterien Gewichtsentwicklung und Schwimmtest. Die gute bis sehr gute Kontrastqualität erreicht mit geringen Abstrichen die von Amipaque^{R} in der gleichen Dosis.

Für Angiografin^{R}, das in der Dosis 5 ml/kg KG i.v. in den Hauptversuchen ohne erkennbare Nebenwirkungen vertragen wurde, werden vom Hersteller LD_{50} (i.v.)-Werte von 30 ml/kg KG (erwachsene Ratten) aufgeführt (102). Im direkten Vergleich aller 4 Präparate hat Angiografin^{R} i.v. bei Mäusen ebenfalls die größte Toxizität (100). Literaturangaben für Babyratten liegen nicht vor. Auch in der vorliegenden Studie ist die akute i.v. Toxizität von Angiografin^{R} von allen 4 KM am größten. Die Plasmaeiweißbindung von Angiografin^{R} beträgt etwa 10 % (87) und ist damit von den 4 untersuchten Substanzen ebenfalls am höchsten. Der Zusammenhang zwischen der Plasmaeiweißbindung und der Unverträglichkeit der Substanzen ist bekannt (48). Eine hohe Proteinbindung kann durch große Affinität zu Erythrozyten und Bindungsstellen von Enzymen eine ganze Reihe von Störungen verursachen (87). Die LD_{50} (i.v.), die im Vorversuch an heterozygoten jungen Gunn-Ratten bestimmt wurde (17 ml/kg KG), liegt um fast die Hälfte niedriger als der vom Hersteller genannte Wert von 30 ml/kg KG. Bei Zutreffen dieser Angabe für erwachsene Ratten muß auf wesentlich schlechtere Verträglichkeit von Angiografin^{R} bei Jungtieren geschlossen werden. So ein Altersunterschied ist schon für die Verträglichkeit von 76 %igem Urografin^{R} beschrieben (11). Dieses KM entspricht im Wirkstoff dem Angiografin^{R} in etwas konzentrierterer Form. Die LD_{50} (i.v.) des Urografin^{R} bei jungen Ratten lag dort mit 10 ml/kg KG ebenfalls um fast die Hälfte tiefer als bei ausgewachsenen Tieren (19,3 ml/kg KG). Neben der Plasmaeiweißbindung dürfte vor allem die hohe Osmolalität von Amidotrizoat bzw. Diatrizoat in diesen Zubereitungen die Ursache für die starke und altersverschiedene Toxizität im Vergleich zu den anderen 3 niederosmolalen KM sein. Hypertone Lösungen lösten im Tierversuch durch Schädigung des Zellmetabolismus schwere metabolische Acidose aus (86). Auch bei erwachsenen Patienten führten hypertone KM (Conray 280, 1440 mOsmol/kg) zu Acidose, deren Grad dosisabhängig war (85). Ein Anstieg der Serum-

osmolalität auf Werte über 330 mOsmol/kg, der nach Levin und Mitarb. (53) bereits durch 1 ml/kg KG KM i.v. für kurze Zeit möglich ist, verursachte im Tierversuch ernste neurologische Schäden durch cerebrale Dehydratation (85). Auch kurze Hypertonizität des Plasmas von nur 5 Minuten Dauer konnte zu subduralen und intracerebralen Blutungen führen (57). Serumosmolalitäten um 450 mOsmol/kg führten zum Tode (85). I.v. Injektion von 5 ml/kg KG Renovist 60 (60 %iges Methylglucamindiatrizoat, Osmolalität 1400 mOsmol/kg) erhöhte die Serumosmolalität nach schneller i.v. Injektion um bis zu 40 % (88)! Die Flüssigkeits/Elektrolytbalance des Neugeborenen-Organismus reagiert auf solche Schwankungen besonders empfindlich (88). Nach Angiografin^{R} 5 ml/kg KG i.v., d.h. im eigentlich nicht toxischen Dosisbereich von 20-30 % der LD_{50} (i.v.), kam es tatsächlich zu etlichen Todesfällen bei homozygoten Gunn-Ratten bis 6 Wochen p.inj.. Hier starben 8 von 33 Tieren und damit hochsignifikant mehr ($p \leq 0{,}001$) als in allen anderen i.v. Versuchsreihen zusammen (4 von 190). Ein Kernikterus als Todesursache ist trotz der nachgewiesenen Bilirubinverdrängung durch Angiografin^{R} (s.u.) unwahrscheinlich, denn die überlebenden Ratten dieser Serie reagierten im Schwimmtest 6-10 Wochen p.inj. völlig normal. Die Präparatetoxizität scheint bei den ikterischen Ratten der primäre Grund für Letalität und wahrscheinlich auch für den Wachstumsrückstand von immerhin ca. 1 g zu sein. Wachstumshemmung von Jungtieren durch Medikamentennebenwirkungen sind bekannt (11). Erstaunlich ist nur, daß selbst nach 10 ml/kg KG Angiografin^{R} keines der heterozygoten Tiere starb. Vielleicht ist die ikterische Gunn-Ratte der hypertonen Angiografin^{R}-Wirkung wegen langsamer KM-Ausscheidung länger ausgesetzt als die nichtikterische Ratte. Über eine Bilirubinnephropathie der homozygoten Gunn-Ratte wurde mehrfach berichtet (70, 69). Die dabei bestehende Tendenz zum stärkeren renalen Wasserverlust bei osmotischer KM-Diurese könnte die weitere Elimination von Angiografin^{R} behindern. Außerdem spielt

eventuell die Bilirubin-Vorschädigung vieler Enzymfunktionen bei den homozygoten Ratten (43) eine Rolle. Dadurch könnten diese Tiere empfindlicher auf die Proteinaffinität von Angiografin^R reagieren.

Die bilirubinverdrängende Wirkung von Angiografin^R in den Hauptversuchen ist deutlich: Die Serumbilirubinwerte liegen um 15-20 % des Anfangswertes unter dem Kontrollwert. Osmotische Effekte beeinflussen die Meßwerte nicht, denn der Hkt entspricht dem nach i.v. NaCl-Injektion. KM-Plasmaverdünnung und Hämokonzentration durch osmotische KM-Diurese, die hier am stärksten zu erwarten sind, halten sich also die Waage. Der intravasale Bilirubinverlust ist trotz halber i.v. Dosis 2-3 mal größer als bei Amipaque^R. Die Plasmaeiweißbindung von 10 % erklärt hinreichend die mindestens 5fach intensivere Angiografin^R-Wirkung auf den Bilirubin-Albumin-Komplex im Vergleich zu den nichtionischen KM. Obwohl Brodersen für Angiografin^R ein K_D von 8,5 x $10^1 M^{-1}$ angibt, das kleiner ist als bei Amipaque^R, kommt er doch auf ein δ von $\leqq$ 1,25 für Angiografin^R. Das unterstreicht die Möglichkeit zur Bilirubinverdrängung durch diese Substanz. Auch nach s.c. Gabe von 5 ml/kg KG Angiografin^R war ein Absinken des Serumbilirubins zu beobachten. Der Unterschied zur Kontrolle betrug aber applikationsbedingt nur 8 % (30). Die Röntgenergebnisse nach i.v. Gabe dieser Dosis, die wegen der dann zu erwartenden Nebenwirkungen nicht überschritten werden sollte, sind nicht zufriedenstellend.

Hexabrix^R, das eine ausgeprägte Bilirubininterferenz besitzt, blieb in der Dosis von 5 ml/kg KG i.v. bei homozygoten Ratten ohne sichtbare Nebenwirkungen. Die im Vorversuch ermittelte LD_{50} (i.v.) beträgt 21,5 ml/kg KG und damit nur die Hälfte des Wertes für Solutrast^R. Auch bei Mäusen ist Hexabrix^R etwas besser verträglich als Angiografin^R, aber nur halb so gut wie Solutrast^R (100). Die Röntgenergebnisse durch 5 ml/kg KG Hexabrix^R i.v. sind unbefriedigend. Die Beurteilung von Hexabrix^R hängt entscheidend von der Art der KM-Applikation ab: Der Unter-

schied zwischen den i.v. Ergebnissen für SBK und LD_{50} und den entsprechenden s.c. Resultaten ist bei Hexabrix® viel größer als bei den anderen 3 KM. Dort beträgt etwa die LD_{50} (i.v.) immer ca. 75 % der LD_{50} (s.c.), bei Hexabrix® nur 54 % der LD_{50} (s.c.). Die Röntgenaufnahmen liefern die Begründung für die bei allen KM und besonders bei Hexabrix® geringere KM-Toxizität und Serumbilirubinwirkung nach s.c. Gabe. Wegen langsamer Resorption des kontrastgebenden s.c. KM-Depots liegen alle KM zwar länger aber dafür in geringeren Plasmaspiegeln im Blut der homozygoten Gunn-Ratte vor. Schon Johnson und Mitarb. (41) berichteten, daß die Dauer des SBK-Effekts nach Sulfonamid-Injektion der Dosis direkt und der Ausscheidungsrate indirekt proportional war. Ein reziprokes Verhalten zwischen SBK und Medikamentenserumkonzentration wurde gefunden (41). Die Resorptionszeit von Hexabrix® aus dem subcutanen Kompartiment ist im Röntgenbild im Vergleich zu den 3 anderen KM deutlich verlängert. Daher kommt es erst 3 Stunden nach Hexabrix® s.c. zum deutlichen SBK-Abfall, während dies bei den anderen bilirubinverdrängenden KM nach s.c. Gabe schon nach 30 min. geschieht (30). Das Ergebnis des s.c. Präparatevergleichs stimmt deshalb nur in der Grundaussage mit dem vom i.v. Präparatevergleich überein. Nach i.v. Injektion, wo unterschiedliches Resorptionsverhalten keine Rolle spielt, werden die Unterschiede zwischen den KM genauer erkennbar. Daher ist eine endgültige Bewertung der KM nur anhand der Resultate der Versuche mit i.v. Injektion möglich, zumal diese Applikationsform dem Vorgehen im klinischen Alltag entspricht. Wegen des vergleichsweise kleinen intravasalen Anteils der s.c. Dosis verändert 10 ml/kg KG Hexabrix® s.c. die Serumbilirubinkonzentration nicht, während dieselbe Dosis i.v. verabreicht zum stärksten SBK-Abfall aller Versuchsreihen führt (s.u.). Für die schlechte s.c. Resorption und die hohe intravasale Wirksamkeit nach i.v. Gabe ist sicher mangelnde Diffusionsfähigkeit wegen der beträchtlichen Molekülgröße des Wirkstoffs von Hexabrix® verantwortlich:

Die Ioxaglinsäure mit sechs Jodatomen an zwei aromatischen Ringen hat etwa das doppelte Molekulargewicht wie die Wirkstoffe der anderen drei Röntgenkontrastmittel. Nach i.v. Injektion von Hexabrix^{R} liegen höhere Plasmaspiegel vor, als bei anderen KM (103). Der Grund ist laut Hersteller schlechterer Abstrom von Hexabrix^{R} ins Interstitium. Die Hexabrix^{R}-Wirkung wird dadurch gegenüber anderen Präparaten nach i.v. Gabe im Vergleich zu s.c. Applikation mehr verstärkt. Für die starken SBK-Veränderungen nach Hexabrix^{R} könnte außerdem die Doppelringstruktur dieses KM eine Rolle spielen, durch die es dem Bilirubinmolekül mehr ähnelt als die anderen Präparate (s. Abb. 6-9, 30, 31). Die SBK sinkt nach 5 ml/kg KG Hexabrix^{R} i.v. ähnlich stark wie nach der gleichen i.v. Dosis Angiografin^{R} um 20 % des Anfangswertes unter die Kontrolle. Unter Berücksichtigung der deutlichen Hämokonzentration (≙ Hkt-Anstieg), die in fast allen Serumproben nach i.v. Hexabrix^{R}-Injektion zu beobachten war, sind die intravasalen Bilirubinverluste aber noch höher als gemessen einzuschätzen. Bei normalem Hkt läge die SBK um mehr als 25 % (bezogen auf den Anfangswert) unter dem Niveau nach i.v. NaCl-Injektion. Damit ist klar, daß Hexabrix^{R} vor Angiografin^{R} die Substanz mit der höchsten Bilirubinverdrängung aus der vorliegenden Studie ist, obwohl die geringe Plasmaeiweißbindung von ca. 2,5 % eigentlich dagegen spricht. Die Effekte der nichtionischen KM sind dagegen nur unbedeutend. Trotzdem bleibt Gewichtsentwicklung sowie Motorik und Koordination im Schwimmtest nach 5 ml/kg KG Hexabrix^{R} bei 4-6 Tage alten homozygoten Gunn-Ratten unbeeinflußt. Weder diese noch die anderen bisher genannten nebenwirkungsfreien KM-Dosen reichen also in dieser Altersklasse aus, um durch die zum Teil nachgewiesene Bilirubinverdrängung erfaßbare neurologische Schäden durch Kernikterus zu setzen. Anders aber bei 10 ml/kg KG Hexabrix^{R}, die als einzige i.v. Dosis in den Hauptversuchen zu Nebenwirkungen (Cyanose) führte. Hier fällt das Serumbilirubin bezogen auf normalen Hkt um bis zu 31 % des Anfangswertes unter den Kontrollwert

und damit fast bis auf 50 % des Ausgangswertes. Der größte SBK-Abfall aller Versuchsreihen durch Hexabrix^{R} korreliert mit deutlichen neurologischen Ausfällen im Schwimmtest. Der Punkterückstand zur Kontrollgruppe ist signifikant, so daß eine Förderung des Kernikterus durch medikamenten-induzierte Bilirubinverdrängung in das ZNS hier sehr wahrscheinlich ist.

Injektion von Sulfonamiden führte bei jungen homozygoten Gunn-Ratten durch den gleichen Mechanismus zu Ataxie, die bei Verhaltensbeobachtung der Tiere auffiel (81). Durch die Bilirubin-Toxizität sind dann die Purkinje-Zellen in der Kleinhirnrinde nahezu selektiv betroffen (78, 37). Wachstumsstillstand des Kleinhirns der Gunn-Ratten nach dem 10. Lebenstag ist die Folge (78, 37, 80). Die Erklärung für die Bilirubin-Empfindlichkeit gerade von Nervenzellen ist die hohe Affinität von Bilirubin zu Gangliosiden und Lipid-Membranen, die häufig in Nervenzellen vorkommen (90, 95). Nach Johnson und Mitarb. (40) zeigt sich das Ausmaß des Kernikterus an der Schwere der neurologischen Schäden. Die Symptomatik tritt bei der kernikterischen Gunn-Ratte fast immer im 1. Lebensmonat auf, ist aber vor dem 10. Lebenstag klinisch schwierig zu diagnostizieren (41). Die hyperkinetischen Erstsymptome verschwinden oft wieder, wenn der Kernikterus geringgradig ("transient kernicterus") ist (41). Spätestens 6 Wochen nach Eintreten des Kernikterus treten dann Spätsymptome wie Spastizität, Koordinationsstörungen und sogar Blindheit und Taubheit auf (74). Johnson und Mitarb. werteten als Beweis für einen Kernikterus nur neurologische Zeichen oder entsprechende pathologisch-anatomische Befunde nach dem 1. Lebensmonat der Gunn-Ratte (41).

In dieser Arbeit fand die Nachuntersuchung der Tiere 6-10 Wochen nach Kontrastmittelinjektion statt. Das Ausmaß des SBK-Abfalls, der durch i.v. Injektion der halben LD_{50} (i.v.) Hexabrix^{R} erzielbar ist, erreicht fast die Größenordnung des Effekts nach i.v. und s.c. Injektion

von Sulfonamiden (98, 5) oder von gallegängigen Röntgenkontrastmitteln (30). Dort fiel das Serumbilirubin nach etwa der Hälfte der LD_{50} noch stärker (um ca. 55 bis 90 %) unter die Kontrollwerte. Dies führte dosisabhängig zu Letalität oder mindestens zu Wachstumsrückstand (5, 30). Letalität bestand nach 10 ml/kg KG Hexabrix^{R} i.v. praktisch nicht. Ebenso war auch die Gewichtszunahme nach dieser Dosis im Normalbereich, so daß zu vermuten ist, daß die neurologischen Schäden wie auch der nachgewiesene SBK-Abfall hier geringer sind. Schon Gunn berichtet, daß deutliche Wachstumsstörungen kernikterischer Ratten erst bei ausgeprägter neurologischer Symptomatik zu beobachten sind (36). Für die durch 10 ml/kg KG i.v. Hexabrix^{R} hervorgerufene Nervenzellschädigung sind bestimmt auch pH-Veränderungen verantwortlich, die dieses Präparat in vivo hervorruft. Bei den Tieren, die nach i.v. Injektion cyanotisch wurden, ist ein starker pH-Abfall als Folge der osmotischen Belastung anzunehmen (85, 86). Ebenso muß die ausgeprägte Dehydratation durch Hexabrix^{R}, die besonders bei jungen Tieren in den Versuchen nachgewiesen wurde, zum Absinken des pH im Blut führen. Dadurch wird über verschiedene Mechanismen die Entwicklung eines Kernikterus begünstigt: Acidose schwächt die Bindung zwischen Bilirubin und Albumin (67, 68, 60) und erhöht die Fähigkeit von ungebundenem Bilirubin als weniger polare organische Säure durch Zellmembranen zu diffundieren (15, 83, 96). Ungebundenes Bilirubin liegt nämlich im Plasma entweder als wasserlösliches IX-α(Z)-Anion vor (s. Abb. 30) oder als wasserunlösliche IX-α(Z)-Säure (s. Abb. 31). Beide Formen stehen miteinander im Gleichgewicht. Das Verhältnis zwischen dem divalenten Anion und der organischen Säure, die als allein verantwortlich für die Cytotoxizität angesehen wird, ist dem Quadrat der Wasserstoffionenkonzentration indirekt proportional (14).

Brodersen (15) errechnete, daß bei pH-Abfall um 1,0 die Menge an freiem Bilirubin in Säureform, die von den Zellen aufgenommen wird, auf das 60-100 fache steigt.

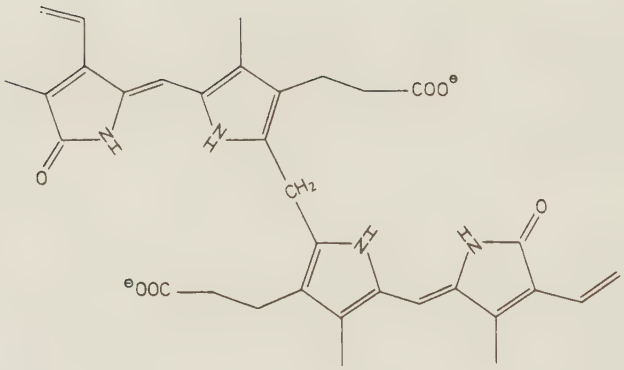

Fig. 2. The anion of bilirubin IX-α(Z) which forms soluble salts in alkaline media.

Abb. 30: Bilirubin in anionischer IX -α(Z)-Form nach (14), Näheres s. Text.

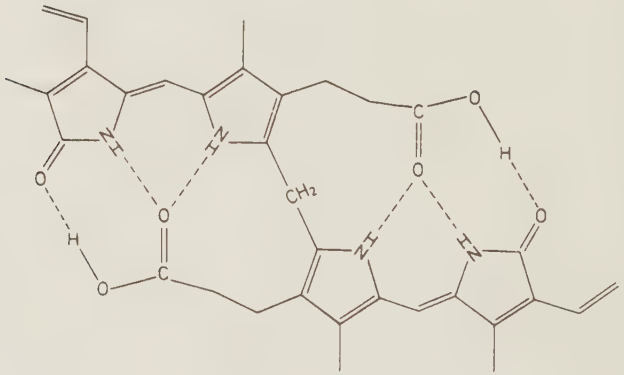

Fig. 1. The main bile pigment in the human body, bilirubin IX-α(Z), in its acid form. An array of intramolecular hydrogen bonds (stippled lines) is characteristic for this substance and is essential for its insolubility and its neurotoxicity.

Abb. 31: Bilirubin in Säure - IX-α(Z)-Form nach (14). Näheres s. Text.

Acidose verstärkt die Affinität von Zellen für Bilirubin auch in Abwesenheit von Albumin (63) und erhöht die Toxizität von ungebundenem Bilirubin auf Gewebekulturzellen (63). Die hypertone Eigenschaft der KM an sich könnte auch eine Rolle spielen. Im Tierexperiment führten Injektionen hypertoner Lösungen zur Schädigung der Blut/Hirnschranke mit kurzzeitiger Filtration von größeren Molekülen in das ZNS (8).

Bei normalem pH und Milieu hängt das Ausmaß der Bilirubinverdrängung und der dadurch möglichen Bilirubin-Toxizität hauptsächlich von der Bilirubin/Albumin Ratio und den Plasmakonzentrationen der verdrängenden Substanzen ab (98). Diese Bedingung war in den Versuchen durch Beobachtung der KM-Nebenwirkungen weitgehend garantiert.

Die wesentlichen Eigenschaften der Bilirubin-Albumin-Bindung unter Medikamenteneinfluß konnten in den Versuchen dieser Arbeit nachgewiesen werden:

Dosiserhöhung des Pharmakons (Hexabrix^{R}) verstärkt die Bilirubinverdrängung und zwar um so mehr, je größer die Anfangs-SBK ist.

Von derselben Medikamentendosis (Hexabrix^{R}) wird bei hoher SBK absolut mehr Bilirubin aus der Albuminbindung verdrängt als bei niedrigem Serumbilirubin. Diese beiden Beobachtungen decken sich mit der Vorstellung, daß es bei Erhöhung der Medikamenten- und/oder Bilirubinkonzentration im Serum an mehr Bilirubinbindungsstellen vom Albumin zur Konkurrenz zwischen Medikament und Bilirubin kommt. Yeary und Davis (98) lieferten dazu in vitro den Beweis: Bei Erhöhung der Sulfonamid-Dosis in einer vorgegebenen Bilirubin-Albumin-Mischung erhöhte sich die Menge ungebundenen Bilirubins bei hoher Bilirubinkonzentration im System um einen größeren Betrag. In Abb. 32, die aus ihrer Arbeit (98) übernommen ist, wird dies an der stärkeren Steigung der mittleren Kurve im Vergleich zur unteren deutlich. Die drei Kurven geben die Konzentration von ungebundenem Bilirubin in einem Ansatz mit 5, 10 und 20 mg/dl Gesamtbilirubin bei Variation

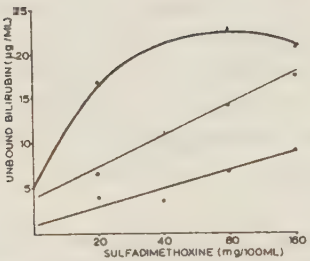

FIG. 6. Effect of sulfadimethoxine concentration and serum bilirubin concentrations on total unbound bilirubin. Bilirubin 20 mg/100 ml (▲), 10 mg/100 ml (■), 5 mg/100 ml (●).

Abb. 32: Konzentration von ungebundenem Bilirubin in drei definierten Albumin-Bilirubin-Mischungen bei Zusatz ansteigender Dosen Sulfadimethoxin nach Yeary und Davis (98). Näheres s. Text.

der Sulfonamid-Konzentration wieder. Die Albuminkonzentration war überall dieselbe.

Bei 5 und 10 mg/dl Bilirubin im Ansatz ist der Zusammenhang zwischen freiem Bilirubin und Sulfonamid-Konzentration linear. Dabei ist das Verhältnis freigesetztes Bilirubin/Anfangsbilirubin (bei Dosiserhöhung) in beiden Ansätzen ungefähr konstant. Tatsächlich war auch in meinen in vivo-Versuchen der KM-induzierte Serumbilirubinabfall unter die Kontrollwerte (≙ der vom Albumin freigesetzten Bilirubinmenge) bei hohem und niedrigem Anfangsserumbilirubin in Prozent etwa gleich.

Alle diese Betrachtungen zur Bilirubin-Albumin-Bindung setzen neben konstanter Bilirubinaffinität auch gleichbleibende Gesamtzahl der Bindungsstellen am Albumin voraus. Durch Albuminmangel verringert sich die Bindungskapazität für Bilirubin und Verdrängungseffekte sind bei gleich hoher Bilirubinkonzentration wegen der erhöhten Bilirubin/Albumin-Ratio nach Abb. 32 stärker.

Die ganz junge ikterische Gunn-Ratte mit ihrer physiologischen Hypalbuminämie (39) muß deswegen besonders empfindlich gegenüber Bilirubinverdrängung sein. Johnson und Mitarb. berichteten über häufiges Auftreten von Kernikterus schon bei unbehandelten Rattenbabies mit niedrigem Serumprotein (41). Das Gesamteiweiß im Serum der einen Tag alten Ratte beträgt nur ein Viertel von dem Wert vier Wochen später (81).

Die Albuminkonzentration der 3-6 Tage alten Gunn-Ratte liegt bei ca. 2 g/dl und erreicht erst am 20. Lebenstag nach kontinuierlichem Anstieg Werte zwischen 3 und 4 g/dl (39). Bei Untersuchung der Bilirubinverdrängung von Pharmaka an Gunn-Ratten sind deshalb unterschiedliche Resultate bei erwachsenen und jungen Tieren zu erwarten. Das ist auch in der vorliegenden Arbeit der Fall, wo die Effekte von Hexabrix^{R} bei drei verschiedenen Altersklassen und verschieden hoher SBK vor der Injektion miteinander verglichen wurden. Die Dosis von 5 ml/kg KG i.v. verursacht bei 2-3 Tage alten homozygoten Gunn-Ratten den größten Serumbilirubinabfall aller untersuchten Altersgruppen, der bei diesen Tieren zu statistisch signifikantem Wachstumsrückstand führt. Das Gewichtsdefizit erreicht das Ausmaß, das nach Sulfonamid-Gabe beobachtet wurde (5). Im neurologischen Test hat diese Gruppe einen deutlichen Punktrückstand, der signifikant wird, wenn als Risikofaktor für einen Kernikterus eine hohe SBK vor der Injektion dazukommt. Für ältere Tiere ist dieselbe Dosis Hexabrix^{R} i.v. bezüglich Wachstum und Neurologie harmlos. Auch Schutta und Johnson (81) stellten fest, daß Lebensalter und Serumbilirubinkonzentration junger homozygoter Gunn-Ratten zur Zeit der Injektion das Ausmaß der neurologischen Störungen mitbestimmen, die durch medikamenteninduzierten Kernikterus entstehen. S.c. Gabe eines Sulfonamids (Sulfadimethoxin 100-150 mg/kg KG) an 1-2 Tage alte Gunn-Ratten führte dort zu schwererer Symptomatik als bei Tieren, die zur Injektionszeit älter waren und das gleiche Serumbilirubin hatten.

Innerhalb einer Altersgruppe waren die neurologischen Abnormalitäten der Höhe der Serumbilirubinkonzentration zur Zeit der Injektion proportional. Für diesen Altersunterschied gibt es verschiedene Ursachen. Neben dem niedrigen Serumalbumin der neugeborenen Gunn-Ratten (39, 81) kann zusätzlich wie beim Menschen die Affinität des vorhandenen Albumins für Bilirubin in den ersten Lebenstagen abgeschwächt sein (42). Strukturunterschiede zwischen einem "adulten" und "fetalen" Albumin, das im Laufe der Entwicklung verschwindet, werden diskutiert (42). Umgekehrt gibt es Hinweise dafür, daß die Affinität extravasaler Rezeptoren für Bilirubin im Neugeborenen-Organismus größer ist als später. Mit Hilfe der Sephadex-Gel-Filtration wurde gezeigt, daß nach Sulfadimethoxin-Injektion das freie Bilirubin im Plasma neonataler homozygoter Gunn-Ratten nur einige Minuten zirkulierte. Bei erwachsenen Ratten war das mehrere Stunden lang der Fall (7). Daneben könnte für die Empfindlichkeit der jungen Tiere die hohe Konzentration an endogenen Substanzen verantwortlich sein, die in der perinatalen Phase mit Bilirubin um die Bindung am Albumin konkurrieren (42). Ebenso gibt es Hinweise auf eine größere Empfindlichkeit des neugeborenen Gehirns gegenüber der Bilirubin-Toxizität (24). Die Ausscheidungsrate der Medikamente ist in der Neugeborenenzeit verlängert (81). Dadurch erhöht sich nach Johnson und Mitarb. (41) die Bilirubinverdrängung vom Albumin. Das Volumen aller Gewebe, die neben dem Gehirn auch Bilirubin aufnehmen können, ist viel kleiner als bei älteren Tieren (81). Die pH-Homöostase ist labil (81). Kontrastmittel erschüttern die labile Wasser/Elektrolytbalance um so mehr, je jünger die Tiere sind (88). Das zeigen die Ergebnisse der Hkt-Bestimmungen. Die hypertone Volumenbelastung (85, 86) und anschließende Dehydratation durch osmotische Diurese kann daher besonders bei ganz jungen Tieren zu Acidose führen, die die Gefahr des Kernikterus durch die genannten Mechanismen verstärkt. Die hier gemachten Feststellungen sind ohne weiteres auf das menschliche Neugeborene übertragbar. Albuminmangel (23) und gleichzeitige Hyperbilirubinämie

sind dort ebenfalls in der Neonatalphase physiologisch. Wird in diesem Alter die Indikation zur Röntgenuntersuchung mit Kontrastmitteln gestellt, ist der Grund oft ein Herzvitium mit Cyanose. Die dabei bestehende starke Katecholaminwirkung hat excessive Steigerungen der Konzentration an freien Fettsäuren im Serum zur Folge, die einen bedeutenden Teil der Bilirubinbindungsstellen hoher Affinität am Albumin besetzen (74). Bilirubin wird dadurch zu Albuminbindungsorten mit schwächerer Bindung verschoben, von wo die Verdrängung durch organische Anionen viel leichter möglich ist (73). In dieser Konstellation könnten allein die pH-senkenden Nebenwirkungen der KM den Pathomechanismus zur Entwicklung eines Kernikterus in Gang setzen, ohne daß eine direkte Bilirubinverdrängung durch das Medikament stattfindet. Die Volumenbelastung, die durch KM-Injektion entsteht, kann außerdem vitienbedingt zu Herzinsuffizienz und damit bei cyanotischen Kindern zur Verstärkung der bestehenden Acidose führen (53). Dadurch wird die Bilirubin-Albumin-Bindung weiter geschwächt.

Es ist klar, daß im Fall einer Neugeborenenhyperbilirubinämie eine mögliche Bilirubinverdrängung vom Albumin durch Kontrastmittel unter diesen Umständen das i-Tüpfelchen zur Auslösung eines Kernikterus darstellt. Deshalb sollten nur solche Präparate eingesetzt werden, die bei gutem Röntgenkontrast die wenigsten Nebenwirkungen und das geringste Risiko einer Bilirubininterferenz aufweisen.

Die beiden nichtionischen niederosmolalen KM Amipaque^{R} und Solutrast^{R} erscheinen selbst bei Überschreitung der klinikäblichen Maximaldosen von 5-6 ml/kg KG i.v. für die gefahrlose Anwendung im perinatalen Indikationsbereich nach den obigen Kriterien gut geeignet. Vom Einsatz der zwei untersuchten ionischen Kontrastmittel ist in dieser Altersstufe abzuraten.

V. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, ob Röntgenkontrastmittel Bilirubin aus der Plasmaalbuminbindung verdrängen können. Dahinter stand die Frage, inwieweit die Röntgenuntersuchung mit Kontrastmitteln bei Neugeborenen mit Hyperbilirubinämie die Entwicklung eines Kernikterus fördern kann. Seit den Arbeiten von A. Silverman und Mitarb. aus den 50iger Jahren (84) ist ein medikamenteninduzierter Kernikterus bei Neu- und Frühgeborenen bekannt. Deshalb werden alle Pharmaka, die für den Einsatz in der Neugeborenenperiode relevant sind, seitdem auf diese Fähigkeit hin überprüft.

Als Tiermodell für die Versuche dieser Arbeit diente die neugeborene homozygote Gunn-Ratte, die wegen eines autosomal rezessiv vererbbaren Glucuronyltransferase-Mangels Bilirubin nicht in der wasserlöslichen glucuronidierten Form über die Galle ausscheiden kann. Sie besitzt einen lebenslangen nichthämolytischen Ikterus, der dem beim Crigler-Najjar-Syndrom des Menschen ähnelt. Vier nierengängige Kontrastmittel zur Angio- und Urografie wurden getestet. Es handelt sich um Megluminamidotrizoat bzw. Meglumindiatrizoat (Angiografin^{R}), Meglumin-Natrium-Ioxaglat (Hexabrix^{R}), Metrizamid (Amipaque^{R}) und Iopamidol (Solutrast^{R}). Die Präparate wurden in den Hauptversuchen intravenös gespritzt, wie es dem Vorgehen im klinischen Alltag entspricht. Zunächst wurde an heterozygoten, nichtikterischen Ratten die akute Toxizität (LD_{50}) bestimmt. Wegen der schnellen intravasalen Verfügbarkeit waren hier alle 4 Zubereitungen toxischer als nach s.c. Gabe, über die vor kurzem Ehnert (30) berichtet hat. Die 2 ionischen Kontrastmittel (KM) waren unabhängig von der Applikationsart weniger verträglich als die nichtionischen Präparate. Bei den Rattenbabies führten von den ionischen KM bereits 20-30 % der LD_{50} (i.v.), was ungefähr kliniküblichen Maximaldosierungen entspricht, zu Dehydratation und Acidose (Hexabrix^{R}) sowie

zu Wachstumsstörungen und sogar zu Todesfällen (Angiografin^{R}). Die Nebenwirkungen der beiden niederosmolalen nichtionischen KM Amipaque^{R} und Solutrast^{R} waren selbst bei doppelter Absolutdosis minimal. Als Grund für die hohe akute Toxizität von Angiografin^{R} besonders an sehr jungen Ratten ist die Hyperosmolalität dieser Zubereitung anzusehen. Hohe Plasmakonzentrationen von Hexabrix^{R}, die wegen schlechter Diffusionsfähigkeit dieser Substanz entstehen, sind wahrscheinlich dafür verantwortlich, daß dieses niederosmolale ionische KM von den Gunn-Ratten nur wenig besser vertragen wurde. Hexabrix^{R} führte von allen 4 KM am stärksten zu Dehydratation durch osmotische KM-Diurese. 2-6 Tage alte Gunn-Ratten waren davon mehr betroffen als ältere Tiere. Diese Nebenwirkungen mit Einfluß auf die pH-Homöiostase, die hohen Hexabrix^{R}-Plasmakonzentrationen und die dem Bilirubin ähnliche Molekularstruktur erklären auch die starke Wirkung dieser Substanz auf die Bilirubin-Albumin-Bindung. Hexabrix^{R} senkte die Serumbilirubinkonzentration (SBK) der homozygoten Gunn-Ratte unter Berücksichtigung der Serumverdünnung von allen untersuchten KM bei vergleichbarer i.v. Dosis am meisten. Der Effekt kommt an den nach Gabe von Sulfonamiden an junge homozygote Gunn-Ratten (5) heran. Der SBK-Abfall durch die i.v. Gabe von Angiografin^{R} war in meinen Versuchen fast ebenso groß, während das Absinken der SBK durch die beiden nichtionischen KM praktisch der Serumverdünnung durch die gleiche i.v. Dosis physiologischer NaCl-Lösung entsprach. Das Ausmaß, um das die SBK nach i.v. KM-Injektion stärker abfällt als nach gleichvolumiger i.v. Injektion von physiologischer Kochsalzlösung, kann als Kriterium für die Größe des intravasalen Bilirubinverlusts angesehen werden. Er entspricht der Menge Bilirubin, die durch Interferenz mit dem Pharmakon an den gemeinsamen Albuminbindungsstellen vom Trägerprotein freigesetzt wird und anschließend in die Körpergewebe der Gunn-Ratte diffundiert. Die Purkinje-Zellen des Kleinhirns besitzen eine große Affinität für freies Bilirubin, das dort toxisch wirkt. Die Menge

an Serumbilirubin, die durch 20-30 % der KM-LD_{50} (i.v.) dorthin verdrängt werden konnte, reichte in den Versuchen dieser Arbeit auch bei Hexabrix^{R} nicht aus, um nachweisbare neurologische Schäden oder Wachstumsstörungen bei 4-6 Tage alten homozygoten Gunn-Ratten zu verursachen. Nach Verdoppelung dieser Dosis Hexabrix^{R} auf 10 ml/kg KG i.v. waren aber bei den homozygoten Gunn-Ratten Bewegungs- und Koordinationsstörungen zu beobachten, die sich als signifikanter Punktverlust im neurologischen Test 6-10 Wochen nach der Injektion auswirkten. Eine Intensivierung des Kernikterus homozygoter Gunn-Ratten durch medikamenteninduzierte Bilirubinverdrängung vom Albumin ist hier anzunehmen. Dieser Vorgang wurde sicher in den Versuchen durch Acidose gefördert, denn viele der homozygoten Gunn-Ratten wurden nach i.v. Injektion der genannten Hexabrix^{R}-Dosis cyanotisch. Außerdem kann eine Behinderung der Bilirubin-Ausscheidung im Zustand der Dehydratation eine Rolle gespielt haben, wie sie von Odell und Mitarb. beschrieben wurde (69).

Die Wirkung von Hexabrix^{R} auf den Bilirubin-Albumin-Komplex war von Alter und Grad des Ikterus der homozygoten Versuchstiere abhängig: Die weitgehend nebenwirkungsfreie und für ältere homozygote Gunn-Ratten harmlose Dosis Hexabrix^{R} 5 ml/kg KG i.v. setzte bei 2-3 Tage alten Tieren neurologische Schäden, die später bei der Nachuntersuchung auffielen. Hier korrelierte der stärkste SBK-Abfall aus allen mit dieser KM-Dosis untersuchten Altersgruppen mit hochsignifikantem Wachstumsrückstand und deutlichem Punktedefizit im neurologischen Test. Dieser Unterschied wurde signifikant, wenn die Gunn-Ratten vor der Injektion bereits einen ausgeprägten Ikterus hatten. Bei den 2-3 Tage alten Versuchstieren, wie auch bei älteren Ratten mit höherer KM-Dosis, wurde nachgewiesen, daß Hexabrix^{R} bei den stärker ikterischen Ratten mehr Bilirubin aus der Albumin-Bindung verdrängt als es bei Gunn-Ratten mit geringerer SBK der Fall ist. Diese Beobachtung deckt sich mit früheren in vitro-Studien von Yeary und Davis (98). Dort war die Menge

an Bilirubin, die durch ein Sulfonamid aus der Albuminbindung freigesetzt wurde, der Bilirubin/Albumin-Ratio direkt proportional.

Hyperbilirubinämie, Albuminmangel und Tendenz zur Acidose kennzeichnen auch das gesunde menschliche Neugeborene. Bei cyanotischen Kindern mit Herzvitien ist die Acidoseneigung noch verstärkt. Die Albuminbindungskapazität für Bilirubin ist in dieser Konstellation pH-bedingt und durch die hohen Serumkonzentrationen von konkurrierenden endogenen Substanzen weiter herabgesetzt. Schon dadurch kann Bilirubin leichter aus dem Plasma in das ZNS eindringen. Allein die Abnahme des Blut-pH, die durch Kontrastmittelgabe verursacht wird, kann in dem Fall das Risiko zur Auslösung einer Bilirubinencephalopathie erhöhen. Wenn unter diesen Bedingungen eine Röntgenuntersuchung mit Kontrastmitteln indiziert ist, muß deshalb im Interesse des Kindes die Entscheidung für das Präparat mit dem geringsten Risiko einer Bilirubininterferenz fallen. Gleichzeitig muß das Kontrastmittel der Wahl möglichst wenige Nebenwirkungen haben und gute Röntgenergebnisse liefern. Die Kontrastqualität, die im Röntgenbild durch nebenwirkungsfreie KM-Dosen bei den jungen Gunn-Ratten erzielt werden konnte, war im Fall der nichtionischen KM weit besser als bei den zwei getesteten ionischen Präparaten. Nach diesen Ergebnissen dürften Amipaque^{R} und Solutrast^{R} gleichermaßen gut für die Anwendung am Neugeborenen geeignet sein. Der Einsatz von Angiografin^{R} und Hexabrix^{R} kann dagegen in der Neonatalperiode eine Gefahr für das Kind darstellen.

VI. Literaturverzeichnis

1. Ames, R.G.
Urinary water excretion and neurohypophysial function in full term and premature infants shortly after birth.
Ped. 12: 272, 1953

2. Ballowitz, L., Heller, R., Natzschka, J., Ott, M.
The effect of blue light on infant gunn rats.
Birth Defects 6: 106-113, 1970

3. Ballowitz, L.
Effect of blue and white light on infant gunn rats and on lactating mother rats.
Biol.Neonat. 19: 409-425, 1971

4. Ballowitz, L.
Hyperbilirubinämie bei Neu- und Frühgeborenen.
Pädiat. Prax. 13: 213-230, 1973/74

5. Ballowitz, L., Hanefeld, F.
Effects of drugs on infant Gunn rats under phototherapy.
Birth Defects 12: 16-80, 1976

6. Ballowitz, L., Hanefeld, F., Schmid, H.
The influence of various aminoglycoside preparations on bilirubin-albumin binding.
J.Perinat. Med. 4: 168-183, 1976

7. Ballowitz, L., Hanefeld, F., Jarofke, R., Keller, P., Korn, J. Schweitzer, U.
Sephadex-Gelfiltration (SGF) in infant and adult Gunn rats.
Biol. Neonate 33: 13-17, 1978

8. Barranger, J.A., Rappaport, L.I., Fredericks, W.R., et al.
Modification of the blood-brain barrier.
Increased concentration and fate of enzymes entering the brain.
Proc. Nat. Acad. Sci. USA 76: 481, 1979

9. Behrens, B., Kärber, G.
Wie sind Reihenversuche für biologische Auswertungen am zweckmäßigsten anzuordnen?
Arch. Exper. Path. Pharmak. 117: 379-388, 1935

10. Blondheim, S.H.
The relation between the albumin concentration of serum and its dye-binding capacity.
J.Lab. & Clin.Med. 45: 740, 1955

11. Breitenstein, R., Oberholzer, F., Probst, H. und Kaufmann, H.J.
Toxizitätsprüfung von angiographischen Kontrastmitteln an neonatalen Ratten.
Biol. Neonat. 8: 36-44, 1965

12. Brodersen, R.
Competitive binding of bilirubin and drugs to human serum albumin studied by enzymatic oxidation.
J.Clin.Invest. 54: 1353-1364, 1974

13. Brodersen, R.
The mechanism of drug-induced displacement of bilirubin from albumin, in:
Stern, L., Ed.
Intensive Care in the newborn: 177-184, Masson Publ. NY, 1976

14. Brodersen, R.
Prevention of kernicterus, based on recent progress in bilirubin chemistry.
Acta Paediatr. Scand. 66: 625-634, 1977

15. Brodersen, R. Ph.D.
Free bilirubin in blood plasma of the newborn: Effects of albumin, fatty acids, pH, displacing drugs and phototherapy, in:
Stern, L., Kildeberg, P., Friis-Hansen, B., Ed.
Intensive care in the newborn, Vol. II: 331-345, Masson Publ., NY, 1978

16. Bunjamin, A.
Induziert Riboflavin während der Phototherapie bei der ikterischen Gunn-Ratte phototoxische Reaktionen?
Inaug.Diss. FU Berlin, 1978

17. Busfield, D., Child, K.J., Tomich, E.
Pharmacological and toxicological studies on Triosil, an intravenous contrast agent.
Brit. J. Radiol. 35: 815, 1962

18. Butcher, R.E., Stutz, R.M. and Berry, H.K.
Behavioral abnormalities in rats with neonatal jaundice.
Am. J. Ment. Def. 75, No. 6: 755-759, 1971

19. Chantler, C.
Newborn disorders, in:
Liebermann, E., Ed.
Clinical Pediatric Nephrology: 310-339, Lippincolt Comp., Philadelphia, 1976

20. Claireaux, A.E., Cole, P.G., Lathe, G.H.
Icterus of the brain of the newborn.
Lancet 2: 1225, 1953

21. Cowger, M.L.
Mechanism of bilirubin toxicity on tissue culture cells: factors that affect toxicity, reversibility by albumin and comparison with other respiratory poisons and surfactants.
Biochem. Med. 5: 1, 1971

22. Crigler, J.F. and Najjar, V.A.
Congenital familial nonhemolytic jaundice with kernicterus.
Ped. 10: 169, 1952

23. Darrow, D.C., Carey, M.K.
The serum albumin and globulin of newborn, premature and normal infants.
J. Ped. 3: 573-579, 1933

24. Davis, D.R., Yeary, R.A.
Effect of sulfadimethoxine on tissue distribution of ^{14}C bilirubin in the newborn and adult hyperbilirubinemic Gunn rat.
Pediatr. Res. 9: 846-850, 1975

25. Day, R.
Inhibition of brain respiration in vitro by bilirubin: reversal of inhibition by various means.
Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 85: 261-264, 1954

26. Diamond, I., Schmid, R.
Experimental bilirubin encephalopathy.
The mode of entry of bilirubin - ^{14}C into the central nervous system.
J.Clin.Invest. 45: 678-689, 1966

27. Dole, V.P.
A relation between non-esterified fatty acids in plasma and the metabolism of glucose.
J.Clin.Invest. 35: 150-154, 1957

28. Edelmann, C.M., Barnett, H.L., Troupkou, V.
Renal concentrating mechanisms in newborn infants. Effects of dietary protein and water content, role of urea, and responsiveness to antidiuretic hormone.
J.Clin.Invest. 39: 1062-1069, 1960

29. Edelmann, C.M.
Pediatric nephrology.
Ped. 51: 856, 1973

30. Ehnert, B.
Der Einfluß von Röntgenkontrastmitteln auf die Bilirubin-Albumin-Bindung.
Inaug. Diss. FU Berlin, 1981

31. Fette, J.
Die Wirkung intravenöser Albumingaben bei Neugeborenen mit Hyperbilirubinämie.
Inaug. Diss. FU Berlin, 1971

32. Golman, K.
Ecretion of metrizamide.
II. An experimental investigation in rabbit, rat and cat after intravenous, suboccipital and peroral administration of ^{125}J-labelled metrizamide.
Act. Rad. Suppl. 335: 258, 1973

33. Golman, K., Almén, T.
Metrizamide in experimental urography I + II.
Act. Rad. Suppl. 335: 312-329, 1973

34. Grainger, R.G.
Osmolality of intravascular radiological contrast media.
Brit. J. Radiol. 53: 739, 1980

35. Gray, R.D., Stroupe, S.D.
Kinetics and mechanism of bilirubin binding to human serum albumin.
J. Biol. Chem. 253: 4370-4377, 1978

36. Gunn, C.H.
Hereditary acholuric jaundice in a new mutant strain of rats.
J. Hered. 29: 137-139, 1938

37. Hanefeld, F. and Natzschka, J.
Histochemical studies in infant gunn rats with kernicterus.
Neuropäd. 4: 428-438, 1971

38. Jacobsen, J.
Binding of bilirubin to human serum albumin.
Determination of the dissociation constants.
Fed. Eur. Biochem. Soc. Lett. 5: 112-114, 1969

39. Jarofke, R., Siegert, M. und Ballowitz, L.
Die Serumproteine der wachsenden Gunn-Ratte.
Quantitative Untersuchungen mit der Agarosegel-Elektrophorese.
Res. Exp. Med. (Berl.) 178: 117-130, 1981

40. Johnson, L., Sarmiento, F., Blanc, W.A., Day, R.
Kernicterus in rats with an inherited defiency of glucuronyl transferase.
Am. J. Dis. Child. 97: 591-608, 1959

41. Johnson, L., Garcia, M.L., Figuera, E., Sarmiento, F.
Kernicterus in rats lacking glucuronyl transferase.
Am. J. Dis. Child. 101: 322-349, 1961

42. Kapitulnik, J., Horner-Mibashan, R., Blondheim, S.M. Kaufmann, N.A., Russel, A.
Increase in bilirubin-binding affinity of serum with age of infant.
J. Ped. 86: 442-445, 1975

43. Karp, W.B.
Biochemical alterations in neonatal hyperbilirubinemia and bilirubin encephalopathy: a review.
Ped. 64: 361-368, 1979

44. Katoh-Semba, R.
Studies on cellular toxicity of bilirubin: effect on brain glycolysis in the young rat.
Brain Research 113: 339-348, 1976

45. Kavlock, R.J., Gray, J.A.
Evaluation of renal function in neonatal rats.
Biol. Neonate 41: 279-288, 1982

46. Klatskin, G., Bungards, L.
Bilirubin-protein linkages in serum and their relationship to the van den Bergh reaction.
J. Clin. Invest. 35: 537-551, 1956

47. Kloster, F.F., Bristow, J.D., Jacobs, W.R., Porter, G.A. and Grisworld, H.F.
Hemodynamic effects of angiocardiography.
Invest. Radiol. 1: 398-406, 1966

48. Knoefel, P.K.
Binding of iodinated radiocontrast agents to the plasma proteins.
Radiocontrast Agents 1: 133, 1971

49. Korn, J.
Korrelation zwischen Serumbilirubingehalt, Sephadex-Gel-Filtrationstest und Kernikterus.
Inaug. Diss. FU Berlin, 1977

50. Kuhn, J.P., Afshani, E.
Radiology of the kidney and urinary tract, in: Rubin, M.I., Ed.
Pediatric Nephrology: 105-142, Williams & Wilkins Comp., Baltimore, 1975

51. Langecker, H., Harwart, A., Junkmann, K.
3,5-Diacetylamino-2,4,6-trijod-benzoesäure als Röntgenkontrastmittel.
Arch. exper. Path. u. Pharm. 222: 584, 1954

52. Laniado, M.
Experimentelle Untersuchungen über den Einfluß einiger neuer antibiotischer Präparate auf das Serum-Bilirubin und den Kernikterus der jungen Gunn-Ratte.
Inaug. Diss. FU Berlin, 1981

53. Levin, A.R., Grossmann, H., Schubert, E.T., Winchester, P., Gilladoga, A.
Effect of angiocardiography on fluid and electrolyte balance.
Am. J. Roentg. 105, No. 4: 777-783, 1969

54. Levine, R.L.
Bilirubin: Worked out years ago?
Ped. 64: 380-384, 1979

55. Levkoff, A.H., Westphal, M.C. and Finklea, J.F.
Evaluation of a direct reading spectrophotometer for neonatal bilirubinometry.
Am. J. Clin. Path. 54: 562-565, 1970

56. Lucey, J.F. Hibbard, E., Behrman, R.E., de Galardo, F.O.E., Windle, W.F.
Kernicterus in asphyxiated newborn rhesus monkeys.
Exp. Neurol. 9: 43-58, 1964

57. Lutrell, C.N., Finberg, L. and Drawdy, L.P.
Hemorrhagic encephalopathy induced by hypernatremia II. Experimental observations on hyperosmolarity in cats.
A.M.A. Arch. Neurol. 1: 153-160, 1959

58. Manzke, H., Simon, C.
Krankheiten des Neugeborenen, in:
Simon, C., Hrsg.
Lehrbuch der Kinderheilkunde: 110, Schattauer, Berlin, 3. Aufl., 1980

59. Marshall, M. and Henderson, G.A.
Tendency to acidosis following injection of radio-opaque contrast material.
Brit. J. Radiol. 41: 190-192, 1968

60. Martin, N.H.
Preparation and properties of serum and plasma proteins XXI. Interactions with bilirubin.
J. Am. Chem. Soc. 71: 1230, 1949

61. McCrury, W.W.
Renal function in the postnatal period, in:
McCrury, W.W., Ed.
Developmental Nephrology: 123-161, Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, 1972

62. Menken, M. et al.
Kernicterus.
Arch. Neurol. 15: 68, 1966

63. Nelson, T., Jacobsen, J., Wennberg, R.P.
Effect of pH on the interaction of bilirubin with albumin and tissue culture cells.
Pediatr. Res. 8: 936-967

64. Odell, G.B.
In vitro studies of the effect of sulfonamides on bilirubin.
Am. J. Dis. Child. 96: 535-536, 1958

65. Odell, G.B.
Protein binding of bilirubin and its possible relationship to kernicterus.
A.M.A. J. Dis. Child. 98: 624, 1959

66. Odell, G.B.
Studies in kernicterus I.
The protein binding of bilirubin.
J. Clin. Invest. 38: 823-833, 1959

67. Odell, G.B.
The dissociation of bilirubin from albumin and its clinical implications.
J. Pediatr. 55: 268-279, 1959

68. Odell, G.B., Cohen, S.
The effect of pH on the binding of bilirubin.
Am. J. Dis. Child. 100: 525 (Abstr.), 1960

69. Odell, G.B., Natzschka, J.C., Storey, G.N.B.
Bilirubin nephropathy in the gunn strain of rat.
Am. J. Phys. 212: 931-938, 1967

70. Odell, G.B.
The distribution and toxicity of bilirubin.
Ped. 46: 16-24, 1969

71. Odell, G.B., Storey, G.N.B., Rosenberg, L.A.
Studies in kernicterus III.
The saturation of serum proteins with bilirubin during neonatal life and its relationship to brain damage at five years.
J. Pediatr. 76: 12-21, 1970

72. Odell, G.B.
Influence of binding on the toxicity of bilirubin.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 226: 225-237, 1973

73. Odell, G.B., Cukier, J.O., Ostrea, E.M., Magdalang, A.C. and Poland, R.L.
The influence of fatty acids on the binding of bilirubin to albumin.
J. Lab. Clin. Med. 89: 295-307, 1977

74. Odell, G.B.
Toxicity of bilirubin and assessment of its risks during neonatal life, in:
Odell, G.B., Ed.
Neonatal hyperbilirubinemia, Monographs in neonatology: 83-113, Grune & Stratton Publ., NY, 1980

75. Quastel, J.H., Bickis, I.J.
Metabolism of normal tissues and neoplasms in vitro.
Nature 183: 281-286, 1959

76. Salvesen, S.
Acute toxicity tests of metrizamide.
Act. Rad. Suppl. 335: 5-13, 1973

77. Salvesen, S. and Frey, K.
Protein binding of metrizamide and the effect on various enzymes.
Act. Rad. Suppl. 335: 247-252, 1973

78. Sawasaki, Y., Yamada, N., Nakajima, H.
Development features of cerebellar hypoplasia and brain bilirubin levels in a mutant (Gunn) rat with hereditary hyperbilirubinemia.
J. Neurochem. 27: 577-583, 1976

79. Schlungbaum, W.
Verteilung, Ausscheidung und Resorption nierengängiger, mit ^{131}J-markierter Röntgenkontrastmittel.
Fortschr. Röntgenstr. 96: 795, 1962

80. Schutta, H.S., Johnson, L.
Bilirubin encephalopathy in the gunn rat: a fine structure study of the cerebellar cortex.
J. Neuropath. Exp. Neurol. 26: 377-396, 1967

81. Schutta, H.S., Johnson, L.
Clinical signs and morphologic abnormalities in gunn rats treated with sulfadimethoxine
J. Pediatr. 75: 1070-1079, 1969

82. Silberberg, D.H. and Schutta, H.S.
The effect of bilirubin and related pigments on cultures of rat cerebellum.
J. Neuropath. Exp. Neurol. 26: 572, 1967

83. Silberberg, D.H., Johnson, L., Ritter, L.
Factors influencing toxicity of bilirubin in cerebellum tissue culture.
J. Ped. 77: 386-396, 1970

84. Silverman, W.A., Andersen, D.H., Blanc, W.A., Crozier, D.N.
A difference in mortality rate and incidence of kernicterus among premature infants allotted to two prophylactic antibacterial regimes.
Ped. 18: 614-625, 1956

85. Sotos, J.F., Dodge, P.R., Meara, P. and Talbot, N.B.
Studies in experimental hypertonicity I.
Pathogenesis of the clinical syndrome, biochemical abnormalities and cause of death.
Ped. 26: 925-938, 1960

86. Sotos, J.F., Dodge, P.R. and Talbot, N.B.
Studies in experimental hypertonicity: Hypertonicity of body fluids as a cause of acidosis.
Ped. 30: 180-193, 1962

87. Speck, U., Nagel, R., Leistenschneider, W. und Mützel, W.
Pharmakokinetik und Biotransformation neuer Röntgenkontrastmittel für die Uro- und Angiografie beim Patienten.
Fortschr. Röntgenstr. 127: 270-274, 1977

88. Standen, J.R., Nogrady, M.B., Dunbar, J.S., Goldbloom, R.B.
The osmotic effects of methylglucamine diatrizoate (Renografin 60) in intravenous urography in infants.
Am. J. Roentg. 93: 471-479, 1965

89. Starinsky, R. and Shafrir, E.
Displacement of albumin bound bilirubin by free fatty acids, implications for neonatal hyperbilirubinemia.
Clin. Chim. Acta 29: 311-318, 1970

90. Stenhagen, E., Rideal, E.K.
CXCV. The interaction between porphyrins and lipoid and protein monolayers.
Biochem. J. 33: 1591-1598, 1939

91. Stern, L. and Doray, B.
Hypothermia, acidosis, and kernicterus in small premature infants.
Proc. 11th. Int. Cong. Pediat. Mexico City: 512-513, 1968

92. Stern, L.
Drug interactions II.
Drugs, the newborn infant and the binding of bilirubin to albumin.
Ped. 49: 916-918, 1972

93. Stern, L., Doray, B., Chan, G., Schiff, D.
Bilirubin metabolism and the induction of kernicterus.
Birth Defects: Orig. Art. Ser. Vol. XII, No. 2, 1976

94. Weihe, W.H.
Der Milchleistungstest bei Versuchstieren.
Z. Versuchstierkunde 10: 147-157, 1968

95. Weil, M.L., Menkes, J.H.
Bilirubin interaction with ganglioside: possible mechanism in kernicterus.
Pediatr. Res. 9: 791, 1975

96. Wennberg, R.P., Rasmussen, L.F.
Factors determining the cellular uptake of bilirubin.
Pediatr. Res. 12: 536, 1978

97. Wennberg, R.P., Ahlfors, C.E. and Rasmussen, L.F.
The pathochemistry of kernicterus.
Earl. Hum. Dev. 3, No. 4: 353-372, 1979

98. Yeary, R.A., Davis, D.R.
Protein binding of bilirubin: comparison of in vitro and in vivo measurements of bilirubin displacement by drugs.
Toxicol. Appl. Pharmacol. 28: 269-283, 1974

99. Zetterstroem, R., Ernest, L.
Bilirubin, an uncoupler of oxidative phosphorylation in isolated mitochondria.
Nature 178: 1335-1337, 1956

100. Herstellerinformationen zu Solutrast^{R} Fa. Byk Gulden
101. Herstellerinformationen zu Amipaque^{R} Fa. Schering
102. Herstellerinformationen zu Angiografin^{R} Fa. Schering
103. Herstellerinformationen zu Hexabrix^{R} Fa. Byk Gulden

Mein besonderer Dank gilt Frau Prof. Dr. med. L. Ballowitz für die Überlassung des Themas, für die gute Betreuung während des praktischen Teils dieser Arbeit und für die zügige und kritische Durchsicht des Manuskripts.
Dank auch an Prof. Dr. med. H.J. Kaufmann, der mir bei der Beurteilung der Röntgenbilder zur Seite stand.
Weiterhin danke ich Frau Goitia, Frau Ludwig und Herrn Dinzel für die Tierpflege und die Unterstützung bei der Durchführung der Tierversuche.

L e b e n s l a u f

Am 29.1.1953 wurde ich als Sohn des kaufmännischen Angestellten Werner Maaß und der Lehrerin Ursula Maaß in Berlin geboren. Ich wuchs in Berlin auf, besuchte hier Grundschule und Gymnasium und legte am 13.1.1972 das Abitur am Carl-Friedrich-von-Siemens-Gymnasium ab.

Nach zunächst 5-semestrigem Chemie-Studium an der TU Berlin begann ich mein Medizinstudium zum WS 1975/76 an der FU Berlin. Während des klinischen Studiums übte ich eine 3-jährige Lehrtätigkeit als Tutor am Institut für Physiologie der FU Berlin mit Schwerpunkt Kreislauf-Neurophysiologie aus.

Das Ärztliche Staatsexamen legte ich erfolgreich am 30.6. 1982 in Berlin ab. Die Approbation erfolgte am 20.7.1982. Am 21.7.1982 bestand ich zusätzlich das Amerikanische Ärzteexamen (E.C.F.M.G.).

Im Dezember 1982 veröffentlichte ich zusammen mit Prof. Hoppe, Berlin, eine Studie in der Deutschen Medizinischen Wochenschrift Nr. 51/52 zum Thema: "Hepatitisrisiko von konventionellen PPSB-Pool-Präparaten".

Nach befristeten Vertretungstätigkeiten auf Inneren Abteilungen in Berlin und Bremen arbeite ich seit 1.1.1984 als Assistenzarzt auf der Radiologischen Abteilung des Wenckebach-Krankenhauses in Berlin.